



HAL
open science

Invasion d'*Aedes albopictus* dans les milieux forestiers tropicaux et potentiel pour l'émergence de virus zoonotiques au Brésil

Taissa Pereira dos Santos

► **To cite this version:**

Taissa Pereira dos Santos. Invasion d'*Aedes albopictus* dans les milieux forestiers tropicaux et potentiel pour l'émergence de virus zoonotiques au Brésil. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2019. Français. NNT : 2019MONTG012 . tel-02174873

HAL Id: tel-02174873

<https://theses.hal.science/tel-02174873>

Submitted on 5 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Écologie de la Santé

École doctorale Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau (GAIA)

Unité de recherche *Maladies Infectieuses et Vecteurs : Écologie, Génétique, Évolution et Contrôle (MIVEGEC IRD-CNRS-Université de Montpellier)*.

Invasion d'*Aedes albopictus* dans les milieux forestiers tropicaux et potentiel pour l'émergence de virus zoonotiques au Brésil

Présentée par Taissa PEREIRA DOS SANTOS

Le 19 mars 2019

Sous la direction de Christophe PAUPY
et Ricardo Lourenço de OLIVEIRA

Devant le jury composé de

Nathalie CHARBONNEL, Directrice de Recherche, INRA
Thierry BALDET, Chargé de Recherche, CIRAD
Claudio LAZZARI, Directeur de Recherche, Université de Tours
Xavier de LAMBALLERIE, Professeur, Aix-Marseille Université
Louis LAMBRECHTS, Chargé de Recherche, Institut Pasteur
Ricardo Lourenço de OLIVEIRA, Directeur de Recherche, Fiocruz
Christophe PAUPY, Directeur de Recherche, IRD

Président du jury
Membre du jury
Membre du jury
Rapporteur
Rapporteur
Co-directeur de thèse
Directeur de thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Écologie de la Santé

École doctorale Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau (GAIA)

Unité de recherche *Maladies Infectieuses et Vecteurs : Écologie, Génétique, Évolution et Contrôle (MIVEGEC IRD-CNRS-Université de Montpellier)*.

Invasion d'*Aedes albopictus* dans les milieux forestiers tropicaux et potentiel pour l'émergence de virus zoonotiques au Brésil

Présentée par Taissa PEREIRA DOS SANTOS
Le 19 mars 2019

Sous la direction de Christophe PAUPY
et Ricardo Lourenço de OLIVEIRA

Devant le jury composé de

Nathalie CHARBONNEL, Directrice de Recherche, INRA
Thierry BALDET, Chargé de Recherche, CIRAD
Claudio LAZZARI, Directeur de Recherche, Université de Tours
Xavier de LAMBALLERIE, Professeur, Aix-Marseille Université
Louis LAMBRECHTS, Chargé de Recherche, Institut Pasteur
Ricardo Lourenço de OLIVEIRA, Directeur de Recherche, Fiocruz
Christophe PAUPY, Directeur de Recherche, IRD

Président du jury
Membre du jury
Membre du jury
Rapporteur
Rapporteur
Co-directeur de thèse
Directeur de thèse



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

"Je sais que ma contribution était faible, mais elle résultait d'une curiosité compulsive, d'un travail persistant et d'un intérêt légitime à essayer de résoudre les problèmes d'épidémiologie de certaines endémies qui touchent principalement nos populations pauvres et marginalisées."

Leonidas Deane

Remerciements

A la Présidente de la République du Brésil de l'époque, Dilma Vana Rousseff, au "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico" (CNPq) et au "Programme sciences sans frontière". C'est grâce à l'effort d'internationalisation de la science brésilienne, que j'ai pu perfectionner mes connaissances et améliorer mes réflexions scientifiques et humaines. En dehors du pays, j'ai pu étudier plusieurs points de vue dans l'administration, l'organisation de différentes méthodologies de la recherche, comme différentes évolutions des techniques plus modernes de tests d'hypothèses.

À l'école Doctorale GAIA de l'Université de Montpellier qui a mis à ma disposition, les structures et les ressources humaines pour une formation d'excellence. J'ai pu expérimenter l'enseignement, acquérir l'expérience dans la préparation des conférences et des travaux pratiques et dirigés.

Au Labex-Ceba (Investissement d'Avenir ANR-10-LABX-2501) qui a financé le projet Tigeramazon et constitué ainsi le premier financement obtenu pour le développement de mon projet doctoral, et sans lequel la réalisation de ma thèse n'aurait pas été possible. Ce financement m'a permis de réaliser mes premiers travaux sur le terrain en Amazonie, ainsi que les analyses moléculaires des échantillons collectés dans la région de Manaus. Merci également pour le soutien que j'ai obtenu de la part du programme ACIP-PTR/Institut Pasteur (ACIP-PTR grant no. 528) et du projet ZIKAlliance (Union Européenne Horizon 2020 no. 734548).

À mon directeur de thèse, Dr. Christophe Paupy, qui m'a appris la rigueur scientifique, l'éthique et l'indépendance dans la recherche, ainsi que certaines

valeurs humaines. Il a contribué à améliorer mon approche des questions scientifiques. Je le remercie pour son professionnalisme.

A mon co-direteur de thèse, Dr. Ricardo Lourenço de Oliveira, qui m'a offert son amitié et m'a fait part de ses grandes connaissances scientifiques. Il m'a aidé dans l'élaboration du projet de thèse. Son aide a été capitale tout au long de ma formation.

A mon co-encadrant, Dr. David Roiz, qui m'a offert entre autres ses connaissances en statistiques et son amitié. Son aide a été capitale tout au long de ma formation.

Au Chercheur, Dr. Carlo Costantini, à qui je suis reconnaissante de m'avoir tant appris, et dirigée lors des analyses statistiques de biodiversité dans la dernière ligne droite de ma thèse.

Aux Drs. Frederic Simard, Anna-Bella Failloux et Didier Fontenille qui m'ont ouvert, avec le Dr. Christophe Paupy, les portes de la recherche en France.

A mes collègues de bureau : Anaïs Appelgren, Pauline Ferraris, Anaïs Bompard, David Carrasco et Beatrice Roche qui m'ont soutenue dans mon apprentissage des habitudes de travail en France. Leur présence a été pour moi un réconfort et m'a permis d'avancer au quotidien.

A toute l'équipe MIVEGEC qui m'a reçue à bras ouverts, et particulièrement à ceux qui m'ont apporté leur aide et leurs réflexions chaque jour au laboratoire. Un merci particulier, à ceux qui m'ont apporté une aide technique, et leur amitié. Je veux nommer : Davy Jiolle, Debora Garcia, Bethsabée Scheid et Claire Durot.

Au « Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários » (LATHEMA-Fiocruz/RJ) qui m'a soutenue dans les collectes sur le terrain et plus particulièrement Marcia Castro, Nidilmar Honorio, Maria Ignez Bersot, Felipe

Abreu, Renato Carvalho, Marcelo Celestino, Mauro Menezes, Maycon Neves et Monique Motta.

A la FIOCRUZ d'Amazonie qui m'a ouvert ses portes deux années consécutives pour me permettre de réaliser mes travaux sur le terrain. A toute l'équipe qui m'a accueillie, spécialement au Directeur le Dr. Sergio Luz Bessa, à Alexandra Nava, Suli Sampanho pour l'attention qu'ils m'ont portée.

Merci à l'équipe de l'Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Au "Laboratorio de Saude Publica Dr. Giovanni Cysneiros- Secretaria Estadual de Saude do Estado de Goiás", Goiania, Brazil. Un merci particulier à, Marcelo Santalucia, Ederval Rocha Ribeiro, Cristiano Gomes Nogueira, Belchior Alves Cirino, Nair Correia Santana, Nara Gonçalves Costa.

A mes parents, Raïssa Maria Pereira dos Santos et Marcio Diniz dos Santos, les grands maîtres de ma vie, qui jours après jours me donnent de nouveaux enseignements. À ma soeur Giuliana Pereira Santos, Cristiana Santos, Andréa Marcia Santos.

A mes neveux et amours éternels Caio Julio Castro Brandao, Joao Gabriel dos Santos, Maria Rita dos Santos.

A mes cousines et cousins Maiza Glaucia Castro, Milena Castro, Ruan Castro, Nonato Almeida, Vander Pereira França, Jorge Junior Castro Santos, Pedro Henrique Castro Santos, Raianne Pereira França, Ananda Pereira França, Hercilia Teixeira Santos, Juliana Dahora, Madil Pereira, Emily Maviana Trindade dos Santos, Emiliana Trindade dos Santos, Natalison Diniz de Souza, Mayara Diniz de Souza Silva, Natalia Diniz de Souza qui ont toujours cru en mes capacités pour réaliser cette thèse.

A mes tantes et oncles qui ont toujours cru en moi, Maria Suzana dos Santos Castro, Claudia Castro Pereira, Nerival Castro Pereira, Jorge Saraiva

Castro Sobrinho, Renyer Castro Pereira, Anilda Pereira França, Adalto Castro Pereira, Rosana Trintade dos Santos, Mariza Diniz dos Santos Souza, Jorge Cruz Santos, Natalicio Almeida de Souza, Carlos Diniz dos Santos. L'amour inconditionnel que me témoigne toute ma famille m'a sans nul doute aidée à supporter l'éloignement.

À mes amis Pamela Lessa, Araci Rodon, Daniela Fontan, Daniela Rocha, Diane Botelho, Carolina Franklin, Marina Zaluar, Juliana Lisboa, Deyse Amora, Maira Grossi de Sa, Lidiane Silveira Martins, Samuel Silveira Martins, Lucas Viana, Wallace Lima, Débora Lima, Rafael Carvalho, Anderson Rogers Santos Oliveira, Jose Joaquim et Paulo Peiter qui me démontrent jour après jour que leur amitié est capable de traverser les frontières du temps et de l'espace. A ces amis je dois un énorme respect et gratitude pour être à mes cotés tout le temps. A mes amis Français Claire et Benjamin Guedj, Guillhem Bassoul et Adrian Rizzardi, Matthieu Terol, Elise et Jonathan Treille, Cécile Broquère, qui m'ont donné leur support émotionnel tout au long de ma thèse et m'ont appris la passionnante culture Française.

Un grand Merci à mon mari, Matthieu Soulier pour son soutien sans faille au quotidien, et à son père Daniel Soulier qui m'a apporté son aide pour la correction orthographique de cette thèse.

A ma nouvelle famille française Françoise Dumas, André Gondel, Martine et Daniel Soulier, Benjamin Soulier, Francis Soulier, Arlette et Gerard Dumas, Helene et Antoine Basin, Anne, Maxime et Patrice Edouard qui m'ont reçu en France avec douceur et amour.

Je voudrais remercier enfin, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce rêve et qui ne sont pas mentionnés dans ces remerciements.

Table des Matières

Résumé	11
Abstract.....	12
Liste des Tableaux.....	13
Liste des Figures	14
Liste des abréviations	16
Partie 1 : Introduction Generale et Objectifs.	19
Chapitre 1 : Biologie Générale d' <i>Aedes albopictus</i>	29
1.1 : Contenu du chapitre.	29
1.2 : Distribution géographiique d' <i>Aedes albopictus</i>	29
1.3 : Positionnement taxonomique.	30
1.4 : Phase préimaginale.	31
1.5 : Phase imaginale.	36
1.6 : Succès de linvasion d' <i>Ae. albopictus</i>	40
Chapitre 2 : Concepts éco-épidémiologiques.....	43
2.1 : Contenu du chapitre.	43
2.2 : Les arbovirus.	43
2.3 : La compétence vectorielle.	44
2.4 : La capacité vectorielle.	46
2.5 : Les vecteurs.	48
Chapitre 3 : <i>Aedes albopictus</i> comme bridge vecteur.	55
3.1 : Contenu du chapitre.	55
3.2 : Contexte.	55
3.3 : Méthodologie de recherche d'article.	56
3.4 : Conclusion.	58
3.5 : Article 1.	61
Partie 2 : Mémoire Expérimental.	79
Chapitre 4 : Outils Méthodologiques.	81
4.1 : Contenu du chapitre.	81
4.2 : Présentation des sites d'étude.....	81
4.3 : Caractéristiques environnementales et épidémiologiques.	84
4.4 : Stratégies d'échantillonnage.....	88
4.6 : Infections naturelles par des arbovirus enzootiques.....	93
4.7 : Comportement trophique d' <i>Ae. albopictus</i>	94
4.8 : Analyses statistiques	95
Chapitre 5 : Potentialité d'invasion des interfaces ville-forêt par <i>Aedes albopictus</i> au Brésil.....	101
5.1 : Contenu du chapitre.	101
5.2 : Contexte.	101
5.3 : Méthodologie de recherche.	102
5.4 : Résultats.	103
5.5 : Conclusion.	106
5.5 : Article 2.	109
Chapitre 6 : Diversité des culicidés en bordures forestières du Brésil.	117
6.1 : Contenu du chapitre.	117
6.2 : Contexte.	117

6.3 : Materiel et Méthode.	120
6.4 : Résultats	120
6.5 : Conclusion.	134
Chapitre 7 : Analyse des infections naturelles par des arbovirus.....	139
7.1 : Contenu du chapitre.	139
7.2 : Contexte.	139
7.3 : Materiel et méthode.	140
7.4 : Résultats.....	141
7.5 : Conclusion.	142
Chapitre 8 : Discussion et perspectives générales.	145
Références Bibliographiques	154
Annexes	167
Annexe 1 :Protocole d'extraction d'ARN.....	167
Annexe 2 : Protocole d'extraction d'ADN sur des moustiques.	169
Annexe 3 : Conditions de PCR pour l'amplification des gènes.....	170
Annexe 4 : Résumé des analyses moléculaires.	171
Annexe 5 : Information supplémentaire Article 1.	185
Annexe 6 : Information supplémentaire de l'Article 2.	176
Annexe 7 : Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm.....	191
Valorisation.....	197

Résumé

Les zoonoses émergentes sont en augmentation depuis les dernières décennies. Ainsi, il est urgent de comprendre les mécanismes de cette émergence, en particulier d'étudier les facteurs écologiques sous-jacents qui déterminent les transferts d'agents infectieux responsables de ces maladies de l'animal à l'homme. Originaire d'Asie, le moustique tigre *Aedes albopictus* est arrivé au Brésil dans les années 1980s et s'est établi dans 60% des villes brésiliennes. Les forêts brésiliennes sont considérées comme un point chaud de la biodiversité mondiale, abritant des centaines d'arbovirus zoonotiques. Ces forêts qui, parfois entourent de grandes agglomérations urbaines, souffrent de la transformation anthropique du paysage, en un terreau idéal pour l'apparition de zoonoses. *Aedes albopictus* représente une préoccupation majeure pour la transmission d'arbovirus épidémiques (Dengue, Chikungunya, Zika) mais également une menace potentielle pour l'émergence de nouvelles maladies zoonotiques en raison de sa présence dans les interfaces ville / forêt, son comportement alimentaire opportuniste et de sa compétence vectorielle pour nombreux virus. Ainsi, ce moustique pourrait potentiellement jouer le rôle de vecteur pont pour le transfert vers le milieu urbain d'arbovirus zoonotiques qui circulent naturellement dans les forêts brésiliennes. Dans cette étude, nous évaluons le potentiel de cette espèce à servir de vecteur pont entre la faune et l'homme. Avec cet objectif (i) Nous avons effectué une recherche et une analyse bibliographiques portant sur trois éléments clés permettant d'évaluer la capacité de ce moustique à assurer le transfert interspécifique d'arbovirus dans les zones selvatiques : 1) la capacité à exploiter les sites naturels de reproduction larvaire, 2) le comportement alimentaire et 3) la compétence vectorielle pour les différents arbovirus. (ii) Nous avons étudié sur le terrain la colonisation, la dispersion, le comportement trophique et l'impact sur la biodiversité d'*Ae. albopictus* dans des interfaces ville / forêt au Brésil. Ce travail de terrain a été réalisé au sein de dix écosystèmes de fragments de forêts dans trois biomes brésiliens: 1) le biome « Amazonia » dans la réserve forestière d'Adolpho Ducke à Manaus; 2) le biome « Mata Atlantica » dans la réserve forestière de Pedra Branca à Rio de Janeiro, dans les fragments de forêt urbaine à Salvador, Serra, Belo Horizonte et dans les fragments de forêt rurale à Domingos Martins, Simonésia, Casimiro de Abreu, Marica-RJ; et le biome « Cerrado » dans la forêt de Morro dos Macacos à Goiania. Dans cette thèse nous avons confirmé qu'*Ae. albopictus* avait la capacité de coloniser des sites de reproduction naturels avec un comportement alimentaire opportuniste et une nette préférence pour les sources de sang humain, suivi par d'autres mammifères et oiseaux. Nous observons que le processus de colonisation et de dispersion est limité à la bordure de la forêt avec un impact sur la composition des espèces dans ces environnements. Nous avons également observé que ce moustique est capable de transmettre 13 arbovirus dans notre recherche bibliographique, bien qu'aucun arbovirus n'ait été détecté chez des moustiques prélevés lors du travail de terrain. Globalement, nos résultats confirment le rôle potentiel d'*Ae. albopictus* comme vecteur pont des maladies zoonotiques aux interfaces forêt / ville au Brésil. Ces travaux ouvrent des pistes de recherche qui devraient conduire à de nouvelles investigations visant à évaluer le risque potentiel de propagation des maladies zoonotiques des zones forestières aux zones urbaines, dans le but de limiter les futures émergences virales.

Mots clés: *Aedes albopictus*, Bordure forestières, Émergence d'arbovirus, Émergence de maladie zoonotiques, Écologie

Abstract

Zoonotic emerging diseases are increasing since the last decades and there is an urgent need to understand the mechanisms underlying such emergences, in particular to study the ecological factors determining spill-over events, the transfer from animals to humans. Being native from Asia, the tiger mosquito *Aedes albopictus* invaded Brazil in the 80's being nowadays established in 60% of Brazilian cities. Brazilian forests are considered as hotspots of wildlife biodiversity, harbouring hundreds of zoonotic arboviruses, suffering human landscape transformation and surrounding large urban cities, and becoming optimal breeding ground for the emergence of zoonotic diseases. This mosquito species represents a major concern for the transmission of epidemic arboviruses (dengue, chikungunya, Zika) but also a potential threat for the emergence of zoonotic diseases due to its presence in urban/forest interfaces, its opportunistic feeding behavior and its vector competence to transmit numerous viruses. Thus, *Ae. albopictus* might potentially act as a bridge vector for the transfer of zoonotic arboviruses that are circulating in Brazilian forests in urban environments. In this study we evaluated the potential of this species to act as a bridge vector between wildlife and humans. For this purpose (i) we performed a bibliographic research and analysis focusing on three key components for assessing the ability of a mosquito to ensure interspecies transfer of arboviruses in sylvan areas: 1) the capacity to exploit natural larval breeding sites, 2) blood-feeding behaviour and 3) the vector competence for arboviruses. (ii) Through field studies, we investigated the colonization, dispersion, host feeding and potential impact on the culicid biodiversity of *Ae. albopictus* at the urban/forest interface in Brazil. This fieldwork was performed in ten forest-fragments ecosystems in three Brazilian biomes: biome "Amazonia" in Adolpho Ducke forest reserve-Manaus; biome "Mata Atlantica" in Pedra Branca forest reserve- Rio de Janeiro, in the urban forest fragment Salvador, Serra, Belo Horizonte and in the rural forest fragment Domingos Martins, Simonésia, Casimiro de Abreu, Marica-RJ; biome "Cerrado" in Morro dos Macacos forest – Goiania. This work confirmed that *Ae. albopictus* has the capacity to colonize natural breeding sites and an opportunistic feeding behavior with a clear preference for human blood sources, followed by other mammals and birds. We observed that the colonization and dispersion processes were limited to the edge forest with an impact in mosquito-species assemblages in this particular environments. Our bibliographic analysis underlined *Ae. albopictus* is competent for 13 arboviruses, while no arbovirus was detected from during the viral screening of field-collected mosquitoes. Globally our results confirmed and estimated the potential of *Ae. albopictus* to act as a bridge vector of zoonotic diseases at the forest/urban interfaces in Brazil. This work opens a new research area in which further investigations could be relevant to better assess the potential spill-over risk of zoonotic viruses from forested to urban areas with the aim to mitigate potential future viral emergences.

Keywords: *Aedes albopictus*, Edge forest, arboviral emergence, Zoonotic emerging diseases, Ecology

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Exemples d'infections naturelles par des arbovirus reportées chez <i>Aedes albopictus</i>	24
Tableau 2 : Exemples d'arbovirus importants en santé publique.	44
Tableau 3 : Informations relatives aux sites de collecte.	88
Tableau 4 : Familles, genres des 34 espèces virales criblées.	94
Tableau 5 : Abondance totale par espèce et par zone de collecte.	122
Tableau 6 : Modèle de régression linéaire des indices de diversité en fonction de la distance.	127
Tableau 7 : Détails de la diversité Gamma par estimée aux niveaux sous-genres ou espèces.	128
Tableau 8 : Les détails de la diversité Gamma, Alpha régionale et Bêta par espèces ou sous-genres, et zone de collecte, selon Jost 2007.	129
Tableau 9 : Résultats de LCBD par fragment forestier à la Bêta diversité.	131
Tableau 10 : p-value de la contribution de chaque distance par fragment forestier à la Bêta diversité.	132
Tableau 11 : Résultats de SCBD par bordure des fragments forestiers.	133
Tableau 12 : Liste des virus investigués à l'aide de Puce Fluidgm et classés par familles, genres.	141
Tableau 13 : Lots détectés positifs avec l'analyse par la Puce Fluidgm..	142

Liste des Figures

- Figure 1** : Carte montrant la distribution mondiale d'*Aedes albopictus*, adaptée de Kraemer et al 2015. En rouge, les régions où la probabilité de présence d'*Aedes albopictus* est égale à 1, en bleu les régions où cette probabilité est égale à 0. Les cercles en noir mettent en évidence l'aire de répartition historique et le centre d'origine de l'espèce. 30
- Figure 2** : Représentation schématique d'un oeuf d'*Ae. albopictus*, adaptée de Suman et al 2011. A) représente la vue dorsale de l'oeuf mettant en évidence les ornements en "O" de l'exochorion. B) vue ventrale de l'oeuf soulignant la hauteur moyenne "H" des oeufs. C) Vue latérale de l'oeuf soulignant la longueur moyenne "L" des oeufs. P : face postérieure de l'oeuf ; A : face antérieure de l'oeuf ; MP : micropyle..... 32
- Figure 3** : Larve d'*Ae. albopictus*. A) Photo de larves de stades III et IV, B) Le segment VIII portant le peigne et le segment IX avec les papilles anales et le siphon respiratoire, C) grossissement des dents non ramifiées composant le peigne du huitième segment des larves. Adapté de Paupy et al. 2009 et http://bioinfo-web.mpl.ird.fr/identiciels/moskeytool_V2/html/index.html. 35
- Figure 4** : A) Adultes d'*Aedes albopictus*, B) Photographie du thorax avec la ligne longitudinale centrale d'écailles argentées, C) Détails de la tête avec les organes sensoriels, D) Détails de l'abdomen segmenté avec des écailles argentées. http://wrbu.org/mqID/mq_medspc/AD/AEalb_hab.html. 37
- Figure 5** : Représentation schématique de la période extrinsèque d'incubation. 45
- Figure 6** : Carte représentant les différents biomes du Brésil (Adapté de <http://www.mma.gov.br/biomas.html> accédé le 17/11/2018). 52
- Figure 7** : Sites d'échantillonnage d'*Ae. albopictus* dans dix interfaces « forêt-urbain » au Brésil. A) Localisation des dix sites au Brésil; B) Images satellites montrant chaque site d'échantillonnage sous la forme d'un point rouge. Les images satellites ont été téléchargées à partir de <https://earthexplorer.usgs.gov> et les cartes ont été établies à l'aide de Qgis 2.18.14. 83
- Figure 8** : Grille représentant les positions de collectes en forêt selon un gradient de pénétration. Les points blancs représentent les positions de collectes. 90
- Figure 9** : Représentation schématique d'un piège pondoir. Adapté de http://www.cuencarural.com/higiene_ambiental/82098-dengue-la-importancia-del-indice-de-breteau-ib-en-la-prevencion-y-control/, accès en 17.03.2014. 91

Figure 10 : Piège Bg-Sentinel. Les flèches jaunes indiquent la zone d'aspiration des moustiques; Les flèches rouges indiquent la zone d'extraction de l'air qui permet de libérer l'attractif chimique placé à l'intérieur du piège (BG-Lure). Adapté de http://www.bg-sentinel.com/ , accès le 17.03.2013.....	92
Figure 11 : A) Puce 96×96 allant dans l'automate Biomark Fluidigm. B) Schéma d'une puce 96×96. Du côté jaune sont déposés les réactifs (= amorces et sondes) et du côté rose sont déposés les échantillons. Les réactions de qPCR ont lieu dans les 9 216 chambres réactionnelles microfluidiques au centre de la plaque (réactions individuelles).	94
Figure 12 : Abondance des moustiques gorgés qui se sont nourris sur les mêmes espèces de vertébrés qu' <i>Ae. albopictus</i>	105
Figure 13 : Abondance relative des espèces anthropiques <i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i> et <i>Cx. quinquefasciatus</i> et des espèces selvatiques natives.	126
Figure 14 : Plot du modèle linéaire pour l'Alpha diversité estimée au niveau du sous-genre avec Hill number $q=1$	127

Liste des abréviations

AM	l'Etat d'Amazonas
APEUV	le virus Apeu
BA	l'Etat de Bahia
BET	bromure d'ethidium
BSQV	le virus Bussuquara
CARV	le virus Caraparu
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
cDNA	acide désoxyribonucléique complémentaire
CEV	le virus de l'Encephalite de Californie
CHIKV	virus du Chikungunya
CHPV	le virus Chandipura
CTYB	cytochrome oxidase b
CVV	le virus Cache Valley
DENV	le virus de la Dengue
DENV- 1	Sérotype 1 du virus de la dengue
DENV- 2	Sérotype 2 du virus de la dengue
DENV- 3	Sérotype 3 du virus de la dengue
DENV- 4	Sérotype 4 du virus de la dengue
DMEM	Dulbecco Modified Eagle Medium
DNA	acide désoxyribonucléique
EEEV	le virus de l'Encéphalite Equine de l'Est
EEVV	le virus de l'Encéphalite Equine Vénézuélienne
ES	l'Etat de l'Espirito Santo
GMAV	le virus Guama
GO	l'Etat de Goias
GROV	le virus Guaroa
IBGE	l'Institut brésilien de géographie et de statistique
ILHV	le virus Iheus
ITQV	le virus Itaqui
JCV	le virus Jamestown Canyon
JEV	le virus Japanese Encephalitis
JURV	le virus Jurona
KEYV	le virus Keystone
km	kilomètre
LACV	le virus La Cross
m	mètre
MAYV	le virus Mayaro
MG	l'Etat de Minas Gerais
MIE	Maladies Infectieuses Emergentes
mm	millimètre
MURV	le virus Murutucu
NDVI	l'indice de végétation par différence normalisé
NEPV	le virus Nepuyo
NHP	primates non humains
ORIV	le virus Oriboca
OROV	le virus Oropouche
ORUV	le virus Orungo
PAHO	Pan American Health Organization
PCR	réaction en chaîne par polymérase
POTV	le virus Potosi

qPCR	réaction en chaîne par polymérase en temp réel
qRT-PCR	Transcriptions inverse suivie de réaction en chaîne par polymérase quantitative
RESV	le virus Restan
RJ	l'Etat de Rio de Janeiro
RNA	acide ribonucléique
RNAr16S	gène codant pour l'unité 16S des ribosomes
ROCV	le virus Rocio
RRV	le virus Ross River
RT-PCR	Transcriptions inverse suivie de réaction en chaîne par polymérase
RVFV	le virus Rift Valley fever
SINV	le virus Sindis
SLEV	le virus Saint Louis
SSHV	le virus Snow shoe hare
TCMV	le virus Tacaiuma
TENV	le virus Tensaw
TVTV	le virus Trivittatus
UNAV	le virus Una
WEEV	le virus de l'Encéphalite Equine de l'Ouest
WNV	le virus West Nile
WRBU	Walter Reed Biosystematics Unit
YFV	le virus de la Fièvre Jaune
ZIKV	le virus Zika
µm	micromètre

PARTIE 1 :

INTRODUCTION

GÉNÉRALE ET

OBJECTIFS



Village Rio Pardo à coté de Manaus - 2016

L'homme a, depuis toujours, profondément modifié les écosystèmes naturels, par son action d'anthropisation.

Ces perturbations anthropiques ont été amplifiées avec l'avènement de la mondialisation, entraînant des conséquences d'ampleur sur les équilibres biologiques (Hulme 2009). Ainsi, les pressions environnementales causées par l'industrie agro-alimentaire, sont responsables de la destruction des écosystèmes forestiers au profit d'immenses zones dédiées à la monoculture et à l'élevage (Morse 1995, Daszak et al. 2000). De même, l'exploitation agroforestière, minière, ou encore la construction de barrages, pour répondre à la demande croissante en énergie électrique, fragilisent les écosystèmes naturels et y érodent la biodiversité (Morse 1995, Daszak et al. 2000). A cela, s'ajoute l'accélération des processus d'urbanisation. Ces exploitations causent le déséquilibre écologique des communautés biologiques qui s'accompagnent d'une augmentation de l'incidence et de la fréquence des Maladies Infectieuses Emergentes (MIE) dont on estime que 75% d'entre-elles sont d'origine zoonotique (Taylor et al. 2001, Wilcox and Gubler 2005, Jones et al. 2008). Le risque d'émergence zoonotique est élevé dans les régions forestières tropicales soumises à ces exploitations, notamment en lien avec une diversité élevée de mammifères et les changements dans l'utilisation des sols (Allen et al. 2017).

Parmi les MIE causées par des virus zoonotiques transmis par des arthropodes vecteurs, se démarquent les maladies transmises par les tiques (comme la Fièvre hémorragique d'Omsk, la Maladie de la forêt de Kyasanur, l'Encéphalite à tiques, la Fièvre hémorragique de Crimée-Congo). Mais également la transmission des fièvres à phlébotomes et de la Fièvre catarrhale ovine par des mouches (culicoides) dans différentes parties du globe (Wilcox and Gubler 2005, Gubler 2009). Ces virus, transmis par des arthropodes sont

appelés arbovirus (de la contraction de l'anglais Arthropod-Borne viruses). Parmi eux, un groupe notoire est constitué par des virus transmis par des moustiques, car il affecte un nombre croissant de personnes, principalement dans des espaces urbains où les moustiques vecteurs, comme *Aedes (Stegomyia) aegypti* et *Aedes (Stegomyia) albopictus* sont présents en fortes densités (Morse 1995, Daszak et al. 2000, Wilcox and Gubler 2005, Neiderud 2015).

Un exemple de l'importance des maladies transmises par ces deux moustiques est l'incidence de la dengue (DENV, 4 sérotypes) qui a été multipliée par plus de 30 au cours des 50 dernières années avec environ 100 millions d'infections annuelles à travers le monde (Bhatt et al. 2012, Guzman and Harris 2015). Pour sa part, le virus chikungunya (CHIKV) a, entre 2004 à 2015, causé plusieurs millions d'infections au cours d'une vague épidémique sans précédent touchant l'Asie, l'Amérique, l'Afrique et l'Europe (Staples and Fischer 2014, Musso et al. 2015). Récemment, c'est le virus Zika qui a émergé, notamment dans le Pacifique et en Amérique tropicale, provoquant des manifestations cliniques nouvelles comme des syndromes de microcéphalie au Brésil chez les nouveaux-nés de mères contaminées par le virus durant les premiers mois de la grossesse. Ce virus constitue à ce titre une menace majeure pour les régions tropicales en raison de son effet à long terme (Zanluca et al. 2015). En effet, le virus Zika a été enregistré dans 87 pays (ou territoires) en 2017, 3 avant 2007 et 61 en 2015 (Hills et al. 2017). La propagation du Zika, du chikungunya et de la dengue illustre les conséquences de l'augmentation des voyages qui favorisent la diffusion des virus dans de nouveaux territoires (Staples and Fischer 2014, Neiderud 2015, Zanluca et al. 2015, Hills et al. 2017).

Les transports de biens et de marchandises à l'échelle inter-continentale, assure de manière croissante la diffusion de moustiques vecteurs et une

homogénéisation des aires de distribution géographique (Lounibos 2002, Paupy et al. 2009). Ces vecteurs et les agents infectieux qui leurs sont associés se sont propagés en dehors de la ceinture intertropicale pour atteindre des régions tempérées en Europe et en Amérique (Schaffner and Karch 2000, Paupy et al. 2009, Medlock et al. 2012).

Aedes albopictus est une espèce invasive communément appelée « moustique tigre asiatique ». Il est originaire des forêts d'Asie du Sud-Est et s'est dispersé à travers le monde grâce au commerce international, et notamment celui des pneus (Paupy et al. 2009). Il s'est ensuite adapté aux nouveaux environnements conquis dans les régions tempérées et tropicales au cours des dernières décennies, si bien qu'il est aujourd'hui présent sur les cinq continents (Paupy et al. 2009). Depuis son apparition en Amérique du Sud, au Brésil en 1986, le moustique s'est progressivement répandu dans la plupart des pays de la sous-région. Il est maintenant établi en Argentine, en Colombie, au Paraguay et au Venezuela (Bonizzoni et al. 2013, Carvalho et al. 2014).

La prolifération d'*Ae. albopictus* représente un risque important pour la santé publique. C'est l'un des principaux vecteurs responsables du maintien, de la dispersion et de la transmission des arbovirus en zone urbaine. *Aedes albopictus* a été incriminé comme vecteur principal lors d'épidémies de CHIKV, DENV au Gabon, en Afrique Centrale (Leroy et al. 2009, Grard et al. 2014). Sur l'île de la Réunion, il consitue un vecteur épidémique de DENV et de CHIKV (Delatte et al. 2008). Il a été incriminé comme vecteur principal lors des épidémies de CHIKV à Madagascar et à Mayotte (Flahault et al. 2007, Delatte, Paupy, et al. 2008). En Europe, il a été incriminé comme l'unique vecteur de CHIKV en Italie et en France (Rezza et al. 2007, Lacour et al. 2015, Venturi et al. 2017). Au Japon, il a été identifié comme principal vecteur lors d'un épisode de

transmission de de dengue à Tokyo (Sawabe 2015). Bien qu'il ait été trouvé naturellement infecté par les virus DENV au Brésil (Martins da Silva 2002, Pessanha et al. 2011, Pancetti et al. 2015), le rôle d'*Ae. albopictus* en tant que vecteur épidémique dans ce pays reste une question non élucidée et qui n'a certainement pas reçu toute l'attention nécessaire permettant d'évaluer son poids dans la transmission des arbovirus en Amérique du Sud. La plupart des efforts de surveillance et de recherche sur *Ae. albopictus* se sont concentrés au Brésil où sa propagation est toujours en cours. Actuellement l'espèce est établie dans plus de la moitié des villes du pays, et 50% de cette propagation est intervenue entre les années 2011 et 2014 (Carvalho et al. 2014).

Certaines études expérimentales ont démontré le potentiel d'*Ae. albopictus* à s'infecter avec plus de 32 arbovirus (Vanlandingham et al. 2016). D'autres études, basées sur le portage de virus en conditions naturelles (isolement ou mise en évidence du génome d'arbovirus dans les moustiques de terrain), permettent également d'évaluer le rôle potentiel de cette espèce dans la transmission de nombreux virus (Tableau 1).

Tableau 1 : Exemples d'infections naturelles par des arbovirus reportées chez *Aedes albopictus*.

Nom du virus détecté	Références
Cache Valley	Armstrong et al. 2013
	Mitchell et al. 1998
Chikungunya	Leroy et al. 2009
Dengue 1, 2, 3 et 4	Pessanha et al. 2011
	Leroy et al. 2009
Encephalite equine de l'est	Mitchell et al. 1992
Keystone	Mitchell et al. 1992
La Crosse	Westby et al. 2015
	Gerhardt et al. 2001
	Lambert et al. 2010
	Mitchell et al. 1998
Potosi	Francy et al. 1990
	Harrison et al. 1995
	Mitchell et al. 1998
Tensaw	Mitchell et al. 1992
West Nile	Cupp et al. 2007
	Farajollahi et al. 2009
	Holick et al. 2002
Zika	Grard et al. 2014

Dans des conditions de laboratoire, des études ont démontré que différentes populations de vecteurs du genre *Aedes* peuvent être plus ou moins susceptibles au virus DENV-2 en fonction de l'origine géographique des moustiques (Failloux et al. 2002). De même, l'interaction entre une population d'*Aedes* vecteur et un génotype spécifique d'arbovirus, tend à sélectionner les populations du virus les plus aptes à infecter susceptibles (Lambrechts et al. 2009). Pour *Ae. albopictus*, des travaux ont démontré que l'interaction entre cette espèce et le virus CHIKV pouvait avoir pour conséquence la sélection et l'émergence de nouveaux variants viraux mieux transmis par cette espèce de moustique (Tsetsarkin and Weaver 2011). C'est le cas par exemple de la mutation A226V au niveau du gène E1 codant pour l'enveloppe virale du virus chikungunya (Tsetsarkin and Weaver 2011).

Si le rôle d'*Ae. albopictus* en tant que vecteur épidémique est maintenant bien avéré, peu d'attention a pour l'heure été accordée à son rôle potentiel comme vecteur pont (ou « bridge vecteur ») et à son aptitude à faciliter l'émergence de virus circulant naturellement dans la faune domestique ou sauvage dans la sphère anthropique (Gubler 2003, Paupy et al. 2009).

En Asie, *Ae. albopictus* colonise des environnements forestiers (non ou faiblement anthropisés) où sa capacité à exploiter des collections d'eau naturelle (trous de rochers et creux d'arbres) associée à son comportement de piqûre opportuniste et zoophile lui permettent de survivre en l'absence d'hôtes humains.

En Afrique Centrale, des programmes de recherche en cours démontrent que l'espèce est capable de coloniser des écosystèmes forestiers en l'absence de l'homme et donc d'interagir avec la faune sauvage (Paupy, données non publiées). Le contact entre *Ae. albopictus* et des animaux sauvages peut

clairement affecter les cycles de transmission naturelle d'arbovirus zoonotiques, augmenter le risque de transfert à l'homme et faire émerger de nouvelles menaces virales.

Un tel risque est particulièrement élevé dans les zones considérées comme des points chauds de la biodiversité, comme c'est le cas de plusieurs biomes du territoire brésilien (forêts amazoniennes, atlantiques et Cerrado). En effet, l'espèce est présente dans les milieux humains, principalement en zones urbaines, peri-urbaines ou rurales liées à des couvertures végétales (Braks et al. 2003, Lima-Camara et al. 2006, Honório et al. 2009). Des études menées au Brésil ont démontré la capacité des femelles à se disperser dans les environnements sylvestres de la forêt atlantique (Maciel-De-Freitas et al. 2006). À l'occasion d'études de surveillance entomologique menées pour la fièvre jaune, cette espèce a été rencontrée à l'intérieur d'un fragment forestier en sympatrie avec des vecteurs selvatiques de la fièvre jaune (Gomes et al. 2008, Alencar et al. 2013).

Malgré ces quelques éléments, la propension d'*Ae. albopictus* à coloniser durablement, et à survivre dans les milieux naturels indépendamment des humains n'est pas encore parfaitement élucidée. Certaines petites agglomérations urbaines en pleine croissance et située au cœur de la forêt amazonienne sont également très infestées par cette espèce. En bordure de ces villes, *Ae. albopictus* pourrait envahir la forêt, interagir et modifier les communautés natives de moustiques (par des relations biologiques compétitives). Il pourrait également interagir avec la faune amazonienne, en particulier avec des espèces qui sont des réservoirs d'arbovirus. Plus de 210 d'entre-eux ont été décrits dans la forêt amazonienne, dont 34 connus pour infecter les humains (par exemple les virus Oropuche, Mayaro, de l'Encéphalite

Équine de l'Est, de l'Ouest et du Venezuela, de l'Encéphalite de Saint Louis, et d'autres virus non groupés) (Vasconcelos et al. 1998, Casseb et al. 2014).

Dans un tel contexte, cette thèse a été réalisée afin de tester l'hypothèse du potentiel de cette espèce servir de vector ponte entre les interface modifié par l'homme/forestières au Brésil, et d'évaluer :

- 1) Le potentiel d'*Ae. albopictus* à envahir différents écosystèmes forestiers au Brésil, et d'observer les limites écologiques de cette invasion ;
- 2) Le contact d'*Ae. albopictus* avec des animaux sauvages, et d'éventuelles interactions avec des arbovirus enzootiques circulant dans la faune sauvage ;
- 3) L'impact de l'invasion forestière d'*Ae. albopictus* sur les communautés natives de moustiques.

Cette thèse est organisée en 7 chapitres :

Le premier vise à définir les caractéristiques biologiques d'*Ae. albopictus*. Le second expose les concepts épidémiologiques utilisés tout au long de cette thèse. Le troisième consiste en une revue de la littérature (article en préparation sous forme de revue) abordant, sous l'angle de la biologie et de la compétence vectorielle, le potentiel d'*Ae. albopictus* à agir comme un « bridge vecteur » d'arbovirus enzootiques. Le quatrième chapitre est dédié à l'approche méthodologique utilisée durant ce travail de thèse. Le cinquième est consacré à une étude visant à évaluer la capacité de dispersion et de colonisation d'*Ae. albopictus* dans les interfaces entre le milieu urbanisé et les écosystèmes forestiers, ainsi que la capacité d'interaction de cette espèce avec la faune sauvage forestière. Le sixième chapitre concerne une étude des communautés de moustiques dans les interfaces forestières et visant en particulier à évaluer l'impact de l'invasion d'*Ae. albopictus* sur la diversité culicidienne. Pour finir, un

septième chapitre présente les résultats d'un criblage de virus effectués sur les spécimens d'*Ae. albopictus* collectés au Brésil. Le manuscrit se poursuit ensuite par une discussion générale, suivie d'un chapitre de conclusion incluant les perspectives qui pourront faire suite à ce travail de thèse.

Chapitre 1 : Biologie Générale d'*Aedes albopictus*.

1.1 : Contenu du chapitre.

Dans ce chapitre quelques éléments clés concernant la distribution géographique d'*Ae. albopictus*, et ses caractéristiques biologiques de la phase préimaginale jusqu'au stade adulte seront rappelés.

1.2 : Distribution géographique d'*Aedes albopictus*.

Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse, 1894) est une espèce qui puise son origine dans les forêts tropicales du Sud-Est de l'Asie. Son aire de répartition historique comprend également les îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien, Figure 1 (Hawley 1988, Delatte et al. 2008). La colonisation de cette région par *Ae. albopictus* remonterait à plusieurs siècles et serait intervenue à l'occasion de migrations humaines en provenance d'Asie du Sud-Est, bien que pour certains auteurs plusieurs vagues d'invasion auraient eu lieu, dont la plus récente daterait de quelques décennies (Delatte et al. 2008).

Aedes albopictus, considérée comme l'une des 100 espèces les plus envahissantes au monde (Lowe et al. 2000), a envahi à la fin du 20^{ème} siècle l'Europe, l'Amérique du Nord au Sud, l'Afrique et l'Océanie. Elle est désormais répartie dans différents pays situés dans une plage de latitudes comprises entre le 40°N et le 40°S. Par conséquent, elle est présente dans la plupart des pays de la zone équatoriale où les températures moyennes sont d'environ 23,3°C pour les périodes froides et de 28,2°C pour les mois les plus chauds (Nawrocki and Hawley 1987, Estrada-Franco and Craig 1995). Dans les zones tempérées, sa présence est enregistrée dans des villes du Japon et de Chine où la température moyenne en hiver peut atteindre -2 °C à -5 °C (Nawrocki and Hawley 1987). Ce moustique est aussi présent à des altitudes atteignant 1200m, voire 1800m au

dessus du niveau de la mer, dans des zones montagneuses de Thaïlande et de la Réunion (Estrada-Franco 1995, Delatte et al. 2008, Delatte et al. 2009). Dans son aire de répartition actuelle, *Ae. albopictus* est donc soumis à des conditions climatiques extrêmement variables. Cette espèce est également soumise à de très importantes variations environnementales qui seront développées plus tard dans ce manuscrit.

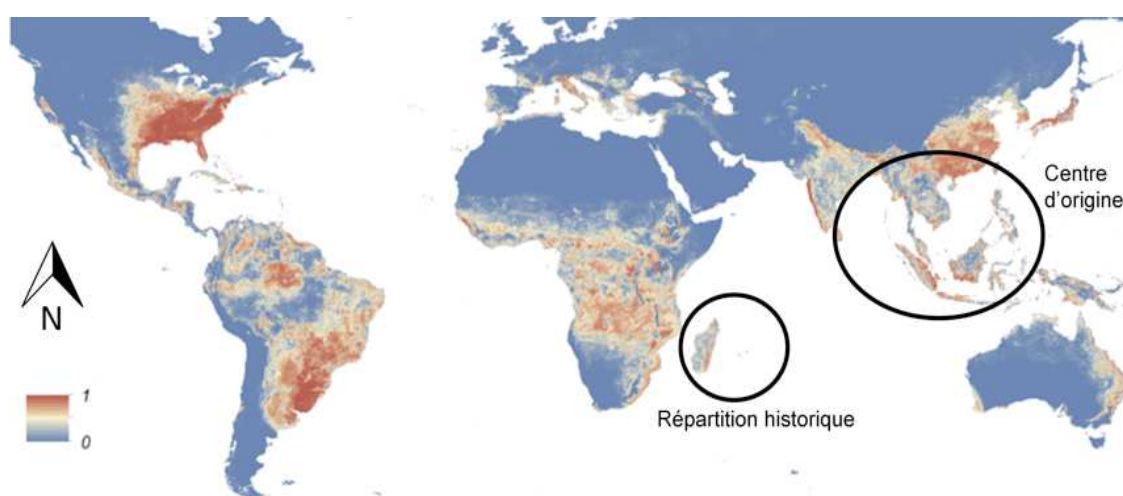


Figure 1 : Carte montrant la distribution mondiale d'*Aedes albopictus*, adaptée de Kraemer et al 2015. En rouge, les régions où la probabilité de présence d'*Aedes albopictus* est égale à 1, en bleu les régions où cette probabilité est égale à 0. Les cercles en noir mettent en évidence l'aire de répartition historique et le centre d'origine de l'espèce.

1.3 : Positionnement taxonomique.

Au niveau taxonomique, *Ae. albopictus* se positionne dans l'embranchement des arthropodes, la classe des Insectes, l'ordre des Diptères, la famille des Culicidae, la sous-famille des Culicinae, le genre *Aedes*, et le sous-genre *Stegomyia*. Ce sous-genre possède des caractéristiques morphologiques classées selon 128 spécificités (WRBU, 2018) et est considéré de très grande importance médicale car il comprend de nombreux vecteurs des pathogènes (notamment de virus) selvatiques et/ou épidémiques comme par exemple *Aedes (Stegomyia) aegypti*, *Aedes (Stegomyia) albopictus* tous deux présents sur les cinq continents. Les espèces *Aedes (Stegomyia) luteocephalus*, *Aedes*

(*Stegomyia bromeliae*, *Aedes (Stegomyia) africanus*, *Aedes (Stegomyia simpsoni*) sont réparties dans différentes régions d'Afrique (WRBU, 2018).

Comme les autres moustiques de la famille Culicidae, les membres du sous-genre *Stegomyia* présentent un cycle de vie avec une métamorphose complète (holométaboles), et un développement indirect comprenant différents stades de développement incluant une phase préimaginale aquatique (stade œuf, 4 stades larvaires, un stade pupal) et une phase imaginale aérienne (adulte). Les espèces du sous-genre *Stegomyia* colonisent des gîtes larvaires naturels comme des trous d'arbres, creux de rochers, mais aussi des collections artificielles. Les œufs pondus sont résistants à la dessiccation. Les moustiques adultes sont diurnes et différentes espèces présentent un comportement plus anthropophile comme *Ae. aegypti*, opportuniste comme *Ae. africanus* et *Ae. albopictus* (WRBU, 2018 ; Soghigian et al. 2017).

1.4 : Phase préimaginale.

L'œuf d'*Ae. albopictus* est composé d'un chorion (imperméable à l'eau) dont la forme et la réticulation permettent l'adhésion à des substrats lors de l'oviposition. Le chorion est composé de trois enveloppes : une interne composée par une cuticule séreuse qui protège l'embryon (Bova et al. 2016); un endochorion qui change de couleur après la ponte, et une extérieure nommée l'exochorion qui présente différentes ornements (Figure 2).

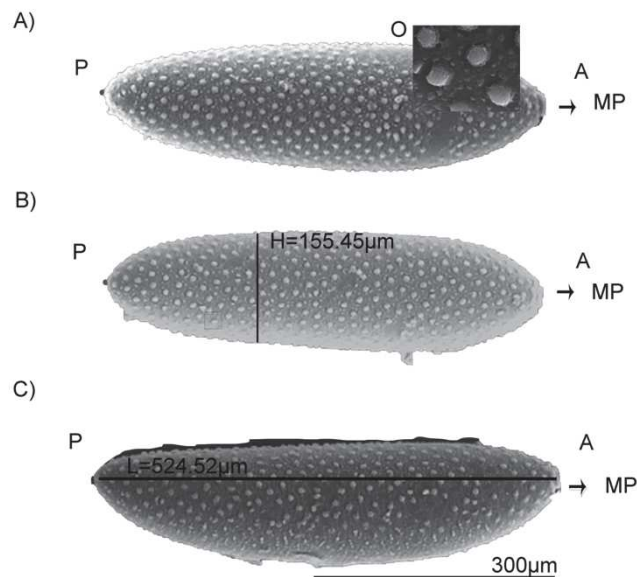


Figure 2 : Représentation schématique d'un oeuf d'*Ae. albopictus*, adaptée de Suman et al 2011. A) représente la vue dorsale de l'oeuf mettant en évidence les ornements en "O" de l'exochorion. B) vue ventrale de l'oeuf soulignant la hauteur moyenne "H" des oeufs. C) Vue latérale de l'oeuf soulignant la longueur moyenne "L" des oeufs. P : face postérieure de l'oeuf ; A : face antérieure de l'oeuf ; MP : micropyle.

Les œufs sont fécondés immédiatement avant l'oviposition, et possèdent une couleur claire au moment du dépôt, mais qui devient noire après quelques minutes. Lors de l'oviposition, les œufs déposés individuellement permettant aux femelles de choisir de multiples lieux de pontes. Les œufs sont déposés en surface de l'eau, mais également sur la paroi humide du récipient naturel ou artificiel, évitant ainsi la dessiccation brutale et l'interruption de l'embryogenèse (Estrada-Franco and Craig 1995).

Les œufs d'*Ae. albopictus* présentent une résistance à la dessiccation comme de très nombreuses espèces du sous-genre *Stegomyia*. Pour *Ae. albopictus* ce phénomène permet aux œufs de persister dans l'environnement près d'une centaine de jours après l'oviposition. (Estrada-Franco and Craig 1995). Lorsque l'embryogénèse se produit, dans les 24 heures après l'oviposition et dans des conditions favorables de température et d'humidité, des œufs éclosent même après deux mois à l'état quiescent (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995). Différentes populations d'*Ae. albopictus* peuvent présenter des

temps variables de résistance à la dessiccation (Sota and Mogi 1992, Sota et al. 1992, Sota 1993). D'après ce même auteur, la résistance à la dessiccation est réduite lors de la diminution de l'humidité relative (moyennes de 95,3, 68,8 et 35 jours pour des humidités relatives respectives de 88%, 68% et 42%).

Dans les régions tempérées, la quiescence des œufs peut être modulée par un phénomène de diapause (Sota and Mogi 1992, Sota et al. 1992, Sota 1993). Ce phénomène permet un arrêt du développement de l'organisme qui se produit avant les épisodes hivernaux rigoureux. Cela permet à l'espèce d'avoir une réponse optimale à son environnement et de surmonter cette période saisonnière rude (Lacour et al. 2015). La diapause des œufs est induite par des modifications des conditions environnementales (abaissement des températures et diminution de la photopériode) auxquelles sont soumises les stades adultes et nymphaux (Estrada-Franco and Craig 1995, Lacour, Chanaud, et al. 2015). Il est possible de distinguer deux phases de diapause. La première, nommée pré-diapause qui comprend l'induction de la diapause chez la femelle (photopériode courte et températures basses). La seconde est la diapause qui commence quand l'embryon se développe et abaisse son métabolisme. La phase post-diapause est caractérisée par l'augmentation progressive du métabolisme des œufs après l'hiver (Lacour et al. 2015). L'entrée et la sortie de la diapause sont déterminées par des facteurs et stimuli environnementaux liés à la photopériode et à la température. Mais les mécanismes moléculaires associés à la diapause ne sont toujours pas bien compris (Urbanski et al. 2010). Des études de transcriptomiques ont cependant indiqué que des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique étaient associés au phénomène de diapause (Reynolds et al. 2012). Des populations d'*Ae. albopictus* des zones tempérées sont capables de se reproduire activement pendant l'hiver dans des conditions météorologiques

moins sévères (Romi et al. 2006, Collantes et al. 2014). Les populations d'*Ae. albopictus* des zones tropicales ont démontré leur capacité à faire la diapause (Estrada-Franco and Craig 1995, Lounibos et al. 2003).

L'éclosion des œufs intervient après la mise en eau, mais dépend de la qualité physico-chimique de l'eau. La température de l'eau la plus efficace pour l'éclosion des œufs se situe entre 20 et 22°C (Alto and Juliano 2001a, Delatte et al. 2009). L'éclosion rapide des œufs est facilitée par la faible teneur en oxygène de l'eau, la température de l'eau, le pH, ainsi que la présence de nutriments (Estrada-Franco and Craig 1995).

Après les stimuli d'éclosion, une larve sort de l'œuf (Figure 3) et, comme chez les autres membres de la famille des *Culicidae*, on distingue chez les larves la tête, le thorax (divisé en pro-, méso- et métathorax) et l'abdomen (comprenant 9 segments). Le huitième segment porte le peigne et le segment IX des papilles anales et un siphon respiratoire. On distingue 4 stades larvaires (I, II, III, IV) chacun séparés par une métamorphose. Après métamorphose, le stade IV donne lieu à l'ultime stade aquatique, la nymphe (Consoli and Oliveira 1994, Estrada-Franco and Craig 1995).

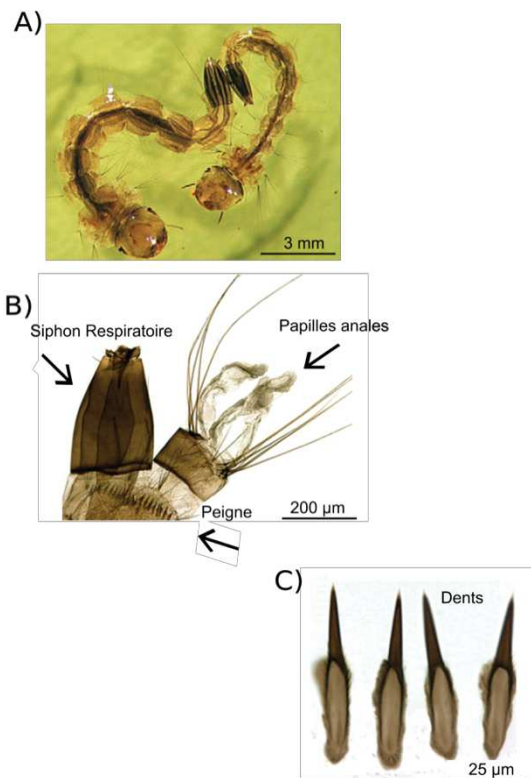


Figure 3 : Larve d'*Ae. albopictus*. A) Photo de larves de stades III et IV, B) Le segment VIII portant le peigne et le segment IX avec les papilles anales et le siphon respiratoire, C) grossissement des dents non ramifiées composant le peigne du huitième segment des larves. Adapté de Paupy et al. 2009 et http://bioinfo-web.mpl.ird.fr/identiciels/moskeytool_V2/html/index.html accédé le 20.08.2018.

Plusieurs facteurs affectent le développement larvaire et par conséquent l'ensemble des stades de vie jusqu'à la phase adulte. Une grande compétition (intra- et inter-spécifique) est à l'origine de spécimens de taille corporelle plus petite, avec un temps d'émergence des larves plus long et un temps de survie plus faible, qui affectent la « fitness » (longévité, la fécondité et le cycle gonotrophique...) des femelles adultes (Alto and Juliano 2001b, 2001a, Alto et al. 2008, Delatte et al. 2009, Westbrook et al. 2010).

Par ailleurs, le taux de survie et la taille de l'adulte diminuent avec l'augmentation de la température (Teng and Apperson 2000, Calado and Navarro-Silva 2002, Delatte et al. 2009, Westbrook et al. 2010). La plupart des études qui visent à comprendre les facteurs qui affectent le développement larvaire, sont réalisés en laboratoire.

Pour mieux comprendre ces différents traits biologiques, il est nécessaire de faire plus d'études qui prennent en compte la température de développement des différentes populations dans des gîtes larvaires *in natura*. Peu d'informations sont disponibles concernant les variations micro-environnementales auxquelles les gîtes larvaires d'*Ae. albopictus* sont soumis. Des études menées par Bartlett-Healy et al. 2012 ont montré que les larves d'*Ae. albopictus* étaient majoritairement retrouvées dans des gîtes naturels ou artificiels où la température de l'eau était inférieure à 18,6°C.

L'émergence des adultes d'*Ae. albopictus* est également affectée par des facteurs environnementaux comme la température, les ressources trophiques et par la compétition intra spécifique.

Le temps d'émergence est décrit comme directement proportionnel à la température ou à la présence d'autres larves, et inversement proportionnel à la concentration des nutriments dans l'eau (Briegel and Timmermann 2001, Yoshioka et al. 2012). Avant l'émergence, le moustique passe par l'état nymphal au cours duquel le moustique immature se métamorphose et devient adulte. Dans cette phase, il ne se nourrit pas, mais il est mobile et sensible aux changements de son environnement dans l'eau, comme l'apparition de vaguelettes ou d'ombres (Consoli and Oliveira 1994). Le stade nymphal peut durer de 2 à 5 jours en fonction de la température et des conditions abiotiques de l'eau (Estrada-Franco and Craig 1995).

1.5 : Phase imaginale.

Comme chez les autres Culicidés, on distingue chez les adultes d'*Ae. albopictus* une tête, un thorax et un abdomen noir avec des marques blanches ou argentées qui donne à l'espèce le nom populaire de « moustique tigre » (Figure 4). La tête porte des organes sensoriels (yeux composés et antennes et

les pièces buccales transformées en proboscis). Le thorax porte les 3 paires de pattes et les ailes (1 paire= ordre des diptères). L'abdomen des moustiques est composé de huit segments plus deux modifiés originaires du segment IX anal des larves (l'anus et les organes génitaux externes). Ce moustique est reconnaissable parmi les *Stegomyia* grâce à sa ligne longitudinale d'écailles centrales argentées sur le thorax.

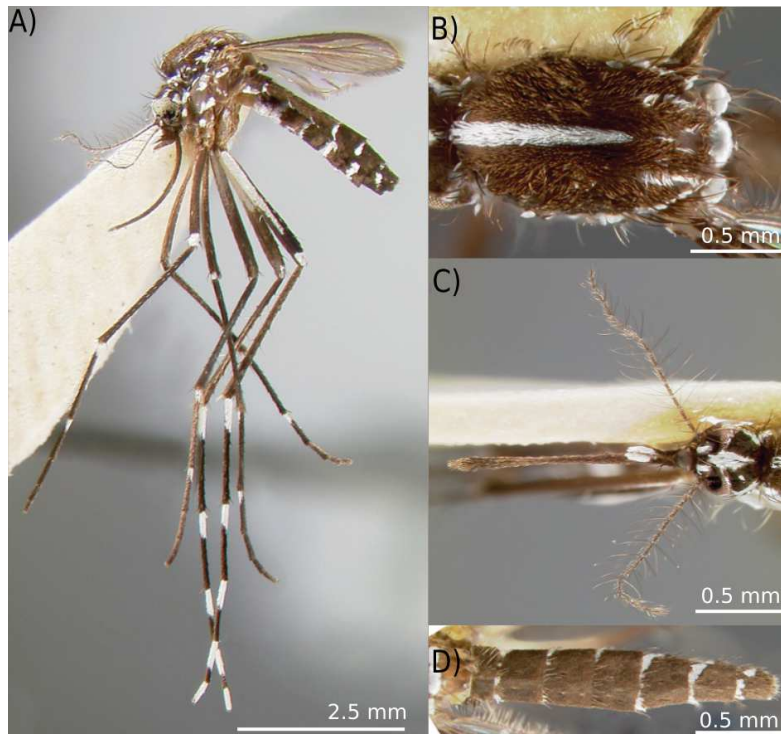


Figure 4 : A) Adultes d'*Aedes albopictus*, B) Photographie du thorax avec la ligne longitudinale centrale d'écailles argentées, C) Détails de la tête avec les organes sensoriels, D) Détails de l'abdomen segmenté avec des écailles argentées. http://wrbu.org/mqID/mq_medspc/AD/AEalb_hab.html accédé le 26.07.2018.

Les caractéristiques physiologiques d'*Ae. albopictus* sont d'abord le résultat des conditions du développement larvaire (Alto et al. 2008, Reiskind and Lounibos 2009, Brady et al. 2013). De plus, la physiologie de l'adulte peut être influencée par des facteurs, comme sa taille corporelle, le régime nutritionnel, ainsi que par la température et l'humidité dans l'environnement immédiat du moustique. Les températures d'environ 20°C sont idéales pour la survie des

moustiques (Alto and Juliano 2001a, 2001b, Briegel and Timmermann 2001, Calado and Navarro-Silva 2002, Delatte et al. 2009, Xue et al. 2010).

La longévité est un facteur de la plus haute importance pour la physiologie en phase adulte d'*Ae. albopictus*. Elle peut conditionner le nombre de repas sanguins pris par les femelles tout au long de leur vie et par voie de conséquence, le nombre de cycles gonotrophiques, le nombre d'oeufs pondus, la fitness de l'espèce, ainsi que la probabilité de prélever un agent infectieux, de le développer et de le transmettre. Ces caractéristiques conditionnent la capacité vectorielle des moustiques qui sera développée dans le prochain chapitre. La longévité augmente également les chances des moustiques infectés par des virus se propager sur de grandes distance (Estrada-Franco and Craig 1995, Brady et al. 2013). Les femelles et les mâles d'*Ae. albopictus* survivent 4 à 8 semaines. Les femelles survivent plus longtemps que les mâles (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995, Delatte et al. 2009).

Le cycle gonotrophique est une caractéristique physiologique importante chez les femelles des moustiques. Il a été défini comme le comportement cyclique de la femelle lorsqu'elle recherche un hôte, lorsqu'elle assure l'ingestion d'un repas de sang, lorsqu'elle fait la digestion du repas, la maturation des ovaires, et la ponte d'oeufs matures après la recherche d'un site de ponte (Klowden and Briegel 1994). La durée du cycle gonotrophique est le temps qui s'écoule entre la recherche d'un hôte suivi de l'ingestion de sang, et la digestion jusqu'à la maturation ovarienne et la ponte (Hawley 1988). Une femelle adulte peut avoir un cycle gonotrophique concordant ou discordant. Le cycle concordant signifie avec un seul repas la femelle fournit suffisamment de sang pour la ponte dans un cycle. Alors que dans le cas du cycle discordant, il est nécessaire que la femelle fasse plus d'un repas de sang pour qu'elle puisse pondre dans un cycle

(Consoli and Oliveira 1994). *Aedes albopictus* est un moustique avec un cycle gonotrophique discordant, mais selon les conditions de développement larvaire certains individus de sa population peuvent avoir un cycle gonotrophique concordant. *Aedes albopictus* prend les premiers repas plus rapidement dans un environnement dont les températures sont comprises entre 20 et 25°C. Par contre, la durée du cycle gonotrophique est plus rapide pour des températures élevées comprises entre 30 et 35°C. La durée moyenne de la période gonotrophique la plus courte a été observée à 30°C (3,5 jours) (Delatte et al. 2009).

Le nombre d'oeufs pondus par femelle à chaque ponte est variable et dépend de la taille de la femelle et de la température. Plus grande est la femelle, plus grande est sa fécondité et les basses températures produisent des moustiques de plus grande taille corporelle (Blackmore and Lord 2000, Alto and Juliano 2001a, Briegel and Timmermann 2001). Les femelles peuvent pondre des oeufs dans des environnements anthropiques, dans des sites de reproduction artificiels tels que des conteneurs en plastique, ou dans des environnements naturels, en déposant leurs œufs dans des trous d'arbres, de bambous, ou de rochers (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995, Paupy et al. 2009). Dans ces environnements, ces oeufs sont pondus surtout au niveau du sol. Néanmoins, ils ont été aussi enregistrés en hauteur jusqu'à 15 m (Gubler 1971, Amerasinghe and Alagoda 1984, Alencar et al. 2013).

Les études sur la dispersion des adultes d'*Ae. albopictus* indique que l'espèce se disperse peu activement. Ainsi des études de marquage/lâcher/recapture indiquent des distances de dispersion des femelles pouvant atteindre 600-800m (Honório et al. 2003, Liew and Curtis 2004, Lacroix et al. 2009, Gouagna et al. 2015). La dispersion des mâles est plus limitée et

observée jusqu'à 100-300m à partir du point de lâcher (Lacroix et al. 2009, Bellini et al. 2010, Gouagna et al. 2015).

1.6 : Succès de l'invasion d'*Ae. albopictus*.

Plusieurs caractéristiques expliquent le succès de l'invasion d'*Ae. albopictus* dans de nouveaux environnements. La résistance des œufs à la dessiccation a été indiquée comme le principal facteur facilitant la dispersion d'œufs de ce moustique (Juliano and Lounibos 2005, Paupy et al. 2009). La diapause assure l'invasion, la colonisation, et la diffusion de l'espèce dans les zones tempérées où les températures hivernales peuvent être sévères. Ces régions représentent une contrainte pour la survie de cette espèce qui subit une forte pression de sélection (Estrada-Franco and Craig 1995). Cette espèce a la capacité de se développer dans des environnements anthropisés (urbains ou ruraux), où elle utilise des gîtes larvaires naturels ou artificiels pour la reproduction (Armistead et al. 2008, Paupy et al. 2009).

Les gîtes larvaires constituent des micro-environnements au sein desquels *Ae. albopictus* entretient des interactions diverses avec des micro-organismes, des compétiteurs et des prédateurs différents selon les environnements, qu'ils soient anthropisés ou naturels. Dans la zone tropicale et subtropicale en milieux urbains, suburbains ou ruraux, la compétition interspécifique est en faveur d'*Ae. aegypti* qui tend généralement à surpasser *Ae. albopictus* par des phénomènes d'exclusion compétitive (Braks et al. 2003, Juliano and Lounibos 2005). En revanche, la situation inverse est observée en Afrique Centrale (Kamgang et al. 2010, 2013). Aux États-Unis et en Europe, il semblerait qu'*Ae. albopictus* possède un avantage par rapport à *Aedes japonicus*, une autre espèce invasive introduite en 1998, et dont la niche écologique se recoupe partiellement avec celle d'*Ae. albopictus* (Andreadis et al.

2001). En effet, *Ae. japonicus*, exploite principalement pour son développement larvaire des contenants naturels (creux de rochers) également exploités par *Ae. albopictus*, mais ce dernière est present dans des contenants artificiels (plats de planteurs, pneus) ou naturels (Armistead et al. 2008, Bartlett-Healy et al. 2012). Toujours dans ce pays il a été démontré que dans les cas d'interactions compétitives avec des espèces natives de moustiques comme *Ochlerotatus triseriatus*, *Ae. albopictus* était un meilleur compétiteur (Juliano and Lounibos 2005). Aux Etat-unis et dans différents pays d'Europe cette espèce a été détectée dans les mêmes gites larvaires que *Culex pipiens* (Carrieri et al. 2003, Costanzo et al. 2005). Au Brésil, Gomes et al. 1992 ont enregistré la présence d'*Ae. albopictus* dans des gites naturels en association avec *Culex quinquefasciatus* et *Aedes terreus*, mais sans toutefois mettre en évidence l'aspect de la compétition interspécifique. Aux États-unis, dans des gites naturels où *Ae. albopictus* est présent, les prédateurs naturels de ces larves sont : *Toxorhynchites rutilus* and *Corethrella appendiculata*.

De manière générale, les interactions biologiques qu'entretient *Ae. albopictus* d'avec d'autres espèces sont mal renseignées. Principalement dans les zones géographiques récemment conquises, cette espèce fait face à de nouvelles relations écologiques avec la faune native (autochtone). Mais aussi avec d'autres espèces invasives pré-installées qui sont faiblement étudiées dans les espaces naturels, spécialement forestiers.

Chapitre 2 : Concepts éco-épidémiologiques.

2.1 : Contenu du chapitre.

Dans ce chapitre, seront repris quelques concepts de base d'entomologie et d'épidémiologie médicale. Il présentera par ailleurs, afin de faciliter la compréhension de la thèse par le lecteur, des détails sur la géographie du Brésil ainsi que sur les niveaux de biodiversité observés dans ce pays.

2.2 : Les arbovirus.

Les arbovirus, qui regroupent des virus de plusieurs familles virales (Flaviviridae, Bunyaviridae, Togaviridae), sont transmis de vertébrés à vertébrés par des arthropodes hématophages comme les moustiques ou les tiques. Ils peuvent circuler au sein de cycles enzootiques sans causer de maladies à l'homme, alors que d'autres peuvent affecter l'homme et causer des maladies graves et parfois mortelles (Weaver 2005). Pour être transmis efficacement, les arbovirus doivent développer une virémie suffisante (titre et durée suffisants) chez leurs hôtes vertébrés afin de permettre l'infection de l'arthropode chargé de le retransmettre à un hôte non-immunisé (Casseb et al. 2014).

Plus de 500 arbovirus sont répertoriés, mais pour la plupart d'entre-eux, les vecteurs et les réservoirs vertébrés, ainsi que leur écologie restent largement méconnus (<https://wwwn.cdc.gov/arbocat/VirusBrowser.aspx>). Les arbovirus les plus importants en santé publique appartiennent principalement aux familles des Flaviviridae, Togaviridae et Bunyaviridae (Tableau 2).

Tableau 2 : Exemples d'arbovirus importants en santé publique.

Famille	Genre	Virus
Flaviviridae	<i>Flavivirus</i>	Fièvre jaune, Encephalite japonaise, Dengue, West Nile, Zika
Bunyaviridae	<i>Bunyavirus</i>	La crosse, Potosi, Tensaw, Keystone, Fièvre de la vallée du Rift
Togaviridae	<i>Alphavirus</i>	Chikungunya, O'nyong nyong, Ross River, Mayaro, Oropouche, Encephalitis équine de l'est, Encéphalitis équine du vénézuéla, Encéphalitis équine de l'ouest

2.3 : La compétence vectorielle.

Conceptuellement, la compétence vectorielle traduit l'aptitude intrinsèque d'une espèce d'arthropode à assurer le développement et la transmission d'un agent infectieux donné. La compétence vectorielle est sous-tendue par des facteurs génétiques et s'évalue au laboratoire, dans des conditions contrôlées (e.g. température et durée d'incubation) afin de déterminer, parmi des individus d'une population de vecteurs expérimentalement infectés par un virus, le pourcentage d'individus infectant à l'issue de la phase d'incubation (Hardy et al. 1983). L'exposition du vecteur aux virus peut être faite par voie orale, soit en proposant un repas de sang artificiel (mélange de sang et de virus) que l'arthropode pourra prélever à travers une membrane (parafilm, peau de poulet,

intestin de porc), soit en le faisant piquer un animal infecté virémique (valable pour les virus capables d'infecter des animaux de laboratoire).

Le titre viral impacte la compétence vectorielle. Ainsi, il y a nécessairement une concentration minimale de particules virales chez l'hôte ou dans le mélange infectieux pour que l'infection soit établie chez les vecteurs. Cette notion de sensibilité de seuil du titre viral est très variable en fonction des virus et des souches virales d'un même virus (Gubler et al. 1979, Hardy et al. 1983, Failloux et al. 2002). Ainsi, il a été montré que le niveau d'adaptation entre un vecteur et un virus est régi par des interactions de type génotype*génotype (Lambrechts et al. 2009).

Le temps pris entre l'ingestion du virus et la transmission orale par le moustique est appelé période extrinsèque d'incubation (EIP) (Figure 5).

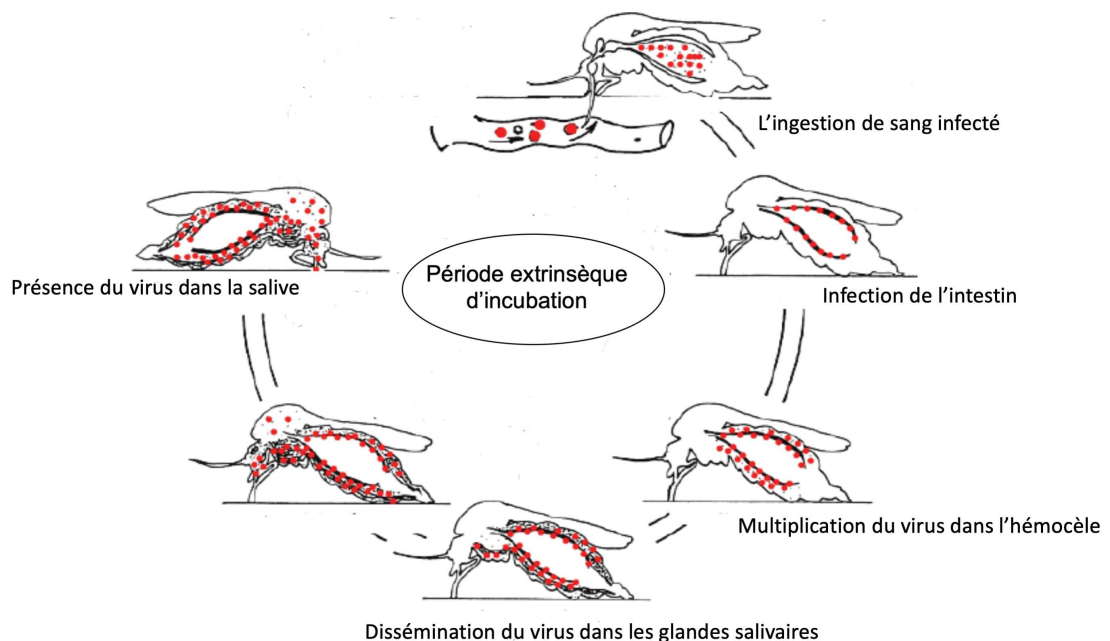


Figure 5 : Représentation schématique de la période extrinsèque d'incubation.

La durée de l'EIP a une incidence sur la dynamique des arbovirus, car plus le moustique est capable de transmettre l'arbovirose rapidement, plus les chances de maintien du cycle de transmission de la maladie sont grandes. La

multiplication virale est également affectée par la température, de sorte que des températures plus élevées ont tendance à réduire la période extrinsèque d'incubation (Gubler et al. 1979, Hardy et al. 1983).

Pour mesurer la compétence vectorielle, on fait appel à cinq mesures principales, selon Vega-Rua 2016:

- Taux d'infection : proportion de femelles présentant une infection du tube digestif parmi les femelles survivantes qui ont été expérimentalement infectées.
- Taux d'infection disséminée : proportion de femelles présentant une dissémination du virus dans les ailes/pattes ou la tête parmi les femelles survivantes qui présentaient une infection du tube digestif.
- Taux de transmission : proportion de femelles présentant des particules virales dans la salive parmi les femelles qui présentaient une dissémination virale (femelles avec la tête, les pattes ou les ailes infectées).
- Efficacité de dissémination : proportion de femelles avec ailes/pattes ou tête infectées parmi les femelles survivantes initialement infectées.
- Efficacité de transmission : correspond à la proportion de femelles présentant des particules virales dans la salive parmi les femelles survivantes initialement infectées.

2.4 : La capacité vectorielle.

L'évaluation de la capacité vectorielle repose sur une méthode de calcul initialement proposée pour quantifier l'efficacité d'une population donnée d'anophèles à transmettre les agents du paludisme (Macdonald, 1957). La formule a par la suite été généralisée et appliquée à d'autres vecteurs ou systèmes vectoriels, comme par exemple aux moustiques du genre *Aedes* (en particulier *Ae. aegypti*) vecteurs des virus de la dengue (Fouque et al. 2001, Failloux and Hervé 2003).

CV = Capacité Vectorielle

m = Nombre de femelles piqueuses par personne et par jour

b = Pourcentage de femelles infectées

a = Nombre de piqûres par jour x taux d'anthropophilie

n = Temps de développement du virus dans le moustique (de l'absorption du virus jusqu'à la présence de virus dans les glandes salivaires)

p = Taux de survie du moustique par jour

r = Durée de la virémie chez l'hôte

$$CV = \frac{ma^2 bp^n}{r(1 - \log_e p)}$$

La capacité vectorielle prend en compte des facteurs extrinsèques comme le contact entre l'homme et le vecteur, des facteurs environnementaux, la bioécologie, la durée de vie, la densité du vecteur, mais aussi des facteurs intrinsèques propres au vecteur et au pathogène (Hardy et al. 1983, Failloux and Hervé 2003).

A la lecture de cette formule, on constate que des différences de facteurs abiotiques propres à chaque région peuvent affecter indirectement la capacité vectorielle, comme la température et le taux d'humidité qui influencent les densités des populations vectorielles. Ainsi la capacité vectorielle peut varier régionalement ou même localement, si un vecteur est susceptible à l'infection d'un agent pathogène. Si la température est très basse, elle ne permet pas le développement et la multiplication du pathogène. A l'inverse, si la température est très haute, elle ne permet pas la survie du vecteur.

2.5 : Les vecteurs.

Un vecteur est un arthropode hématophage capable de transmettre biologiquement un agent pathogène. La transmission biologique, implique quant à elle, que l'agent infectieux, une fois ingéré à l'occasion d'un repas de sang, se multiplie et / ou se développe dans le corps du vecteur (Gubler 2009). Par opposition à la transmission biologique, il peut exister une transmission mécanique qui ne nécessite pas de multiplication et / ou transformation de l'agent infectieux. Dans ce cas, il s'agit d'un « simple » transfert de l'agent infectieux qui peut persister sur/dans certaines parties du corps de l'arthropode (et notamment au niveau des pièces bucales) après un repas de sang sur un animal infecté.

Gubler, 2009 définit cinq types de transmission biologique: La transmission propagatrice, la transmission cyclopropagative, la transmission cyclodéveloppementale, la transmission verticale. Dans le cas de la transmission cyclodéveloppementale, le pathogène, après avoir infecté un vecteur, subit des changements d'un stade à un autre, mais ne se multiplie pas. Par exemple des filaires qui se développent à travers différents stades larvaires dans les moustiques, mais sans se multiplier. Pour la transmission cyclopropagative, le pathogène, après avoir infecté un vecteur, subit des changements d'un stade à un autre et se multiplie. Pour ce type de cycle de transmission, on peut citer par exemple les cycles de vie des parasites du genre *Plasmodium*.

Pour les arbovirus transmis par des moustiques, nous nous intéresserons à la transmission propagatrice et à la transmission verticale. La première consiste en l'ingestion de sang contaminé suivie d'une multiplication du virus dans le corps du vecteur, suivie d'une transmission à un hôte via la salive contaminée. La transmission verticale consiste en l'infection des oeufs par le contact avec d'autres parties du corps du moustique contaminé. Cette transmission est

appelée transmission transovarienne lorsque l'infection commence à partir de l'ovule infecté. La transmission vénérienne peut également se produire, lorsqu'un moustique mâle infecté lors d'une transmission transovarienne ou verticale, infecte la femelle avec laquelle il s'accouple et vice-versa. Dans le cas d'*Ae. albopictus*, la transmission verticale a été démontrée à plusieurs reprises comme pour les virus Ilheus, l'Encéphalite Japonaise, la Crosse, Potosi, West Nile, entre autres (revue par Pereira dos Santos, non publié). Ainsi en Amérique Centrale et du Sud, des adultes d'*Ae. albopictus* issus de larves collectées sur le terrain ont été retrouvées naturellement infectées par les sérotypes 1, 2 et 3 du virus de la dengue (Ibáñez-Bernal et al. 1997, Pessanha et al. 2011, Martins et al. 2012).

La transmission d'arbovirus peut s'opérer dans différents types de cycles qui peuvent être selvatiques, ruraux ou urbains. La majorité des arbovirus circulent naturellement chez des réservoirs animaux (cycles enzootiques), et peuvent être accidentellement transférés à l'homme (zoonoses). Pour d'autres, l'homme est secondairement devenu un réservoir et font alors appel à des vecteurs anthropiques ou épidémiques pour la transmission inter-humaine (Gubler 2009). La plupart des vecteurs épidémiques sont des espèces qui se sont elles aussi secondairement adaptées à l'environnement modifié par l'homme, participant ainsi aux cycles urbains et semi-urbains. Par ces espèces on trouve par exemple *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. pipens*, *Anopheles darlingi*, *An. gambiae*, qui transmettent des agents pathogènes responsables de maladies urbaines, comme le Chikungunya ou la Dengue, dans le cas des deux premiers. Ils transmettent (le) West Nile pour le cas du genre *Culex*, et le paludisme pour le genre *Anopheles* (Juliano and Lounibos 2005).

Certains vecteurs restent dans leur habitat natif, et assurent la transmission et le maintien des pathogènes dans les cycles enzootiques. Ces cycles peuvent s'opérer au niveau de la canopée en forêt, entre des primates non-humain, comme par exemple le cycle de la fièvre jaune en Amérique Latine avec des vecteurs du genre *Haemagogus* (*Hg. Janthinomys* et *Hg. leucocelaenus*) ou des moustiques du genre *Sabethes* (*Sab. albiprivus*). Des cycles sauvages de la fièvre jaune en Afrique sont maintenus par *Aedes africanus* et d'autres espèces de *Stegomyia* selvatiques. Les cycles enzootiques de la dengue et du chikungunya sont principalement maintenus par des moustiques du genre *Aedes* et du sous-genre *Stegomyia* (*Ae. africanus*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. opok*) ou *Diceromyia* (*Ae. furcifer* et *Ae. taylori*). Dans ces cycles appelés également enzootiques l'homme constitue un hôte accidentel.

Il existe également des cycles semi-urbains (ou ruraux) entretenus par des vecteurs qui ne sont pas complètement adaptés aux villes, préférant ainsi les habitats avec une couverture végétale en milieu rural ou périurbain. Comme par exemple le cycle semi-urbain de la fièvre jaune en Afrique, à travers *Ae. simpsoni*.

2.5.1 : Les vecteurs dans les forêts brésiliennes.

Récemment, l'Institut brésilien de géographie et de statistique (IBGE), et différents secteurs de l'académie, ont classé le territoire brésilien en six différents biomes : « Amazonia », « Mata Atlantica », « Cerrado », « Caatinga », « Pantanal » et « Pampa » (Figure 6). Ces biomes regroupent entre 170 000 - 210 000 espèces (43 000 - 49 000 espèces de plantes et 103 - 134 000 espèces animales), dont 95 000 espèces d'insectes incluant 876 espèces de culicidés (Guedes 2012, WRBU 2018). Les données sur la présence de culicidés par biomes brésiliens doivent être revues et mises à jour. Le biome « Amazonia »

dont les 60% se situent en territoire brésilien est le plus vaste (49,29% du territoire brésilien). Il se situe dans le réseau du bassin amazonien qui abrite 20% de l'eau douce de la planète.

Le biome « Mata Atlantica » est concentré sur le littoral du Nord au Sud du Brésil, mais couvre également une zone continentale dans le Sud et le Sud-Est du pays. Ce biome est classé comme un point chaud (aussi utilisé sous le terme « hotspot » dans le manuscrit) de diversité de plantes et de mammifères. Le « Cerrado » et la « Mata Atlantica » sont également des « hotspots » de biodiversité, et constituent des zones prioritaires pour la conservation de la biodiversité mondiale (Myers et al. 2000). Tous ces biomes ont souffert et souffrent de la pression anthropique qui s'exerce depuis le début de l'exploitation du territoire brésilien depuis 1550. Tout d'abord avec la suppression de la végétation indigène comme le Pau-Brésil (*Paubrasilia echinata*), puis avec l'expansion des cultures de la canne à sucre et du café. Plus récemment l'expansion du bétail, du soja, la mécanisation de l'agriculture, et l'exploitation minière ont accéléré la destruction de ces habitats (Klink and Machado 2005).

Les formations forestières sont composées de forêts tropicales denses ou semi-décidues à feuilles caduques, qui occupent 60% du territoire brésilien, principalement en « Mata Atlantica » et « Amazônia ». Les autres biomes sont composés principalement de prairies (ou savannes), notamment le « Cerrado » et une partie de l'Amazonia. L'ensemble des biomes brésiliens abrite 876 (près de 25%) des 3570 espèces de moustiques, actuellement répertoriées à travers le monde (www.mosquitocatalog.org). Par ailleurs, plus de 210 arbovirus différents ont été reportés dans les forêts brésiliennes (dont 196 pour la seule « Amazônia »), et pour lesquels les cycles naturels (y compris les vecteurs) ne sont pas toujours totalement caractérisés. Le biome « Amazônia » possède la

plus grande biodiversité d'arbovirus au monde, et une importante faune entomologique et des vertébrés (Casseb et al. 2014).



Figure 6 : Carte représentant les différents biomes du Brésil (Adapté de <http://www.mma.gov.br/biomas.html> accédé le 17/11/2018).

2.5.2 : Les vecteurs en bordures forestières au Brésil.

La bordure forestière est une zone de transition entre la forêt originelle (primaire) et l'environnement anthropique. Ainsi, du fait de l'anthropisation, la partie périphérique de la forêt subit l'influence de l'environnement forestier et de l'environnement humain (peuplements, villes, agriculture, exploitations minières etc.). Dans cette interface, l'influence sur la biodiversité est appelée « effet de bordure » (Laurance et al. 1998, Tabarelli et al. 2004) responsable des modifications de la composition végétale, d'une diminution de l'humidité relative de l'air, d'une augmentation de la température, qui affecte aussi les communautés animales (Laurance et al. 1998).

Dans de tels environnements, certaines populations végétales, de mammifères, d'arthropodes, de champignons et de bactéries sont favorisées au détriment d'autres populations du fait d'interactions biologiques comme la

compétition, la prédation, le parasitisme avec un impact majeur sur la diminution de la diversité biologique (Davies-Colley et al. 2000, Galetti et al. 2003, Kollmann and Buschor 2003, Redding et al. 2003, França and Marini 2009, Chaves, Stoner, et al. 2011). L'effet de bord varie d'un fragment de forêt à l'autre, les plus petits fragments subissant le plus grand effet de bord qui ait été enregistré entre 35 à 200 m (Zuidema et al. 1996, Laurance et al. 1998, 1999, Rodrigues 1998). Aucune étude n'a été menée pour évaluer l'effet de la bordure sur les communautés de moustiques. Les études menées pour évaluer la diversité de culicidés dans des forêts, ne tiennent généralement pas compte de la distance entre les zones à l'intérieur de la forêt et la zone anthropique ou la bordure de la forêt. Il est néanmoins très important de surveiller ces zones, car elles sont cruciales pour l'émergence locale des pathogènes depuis des cycles enzootiques.

Chapitre 3 : *Aedes albopictus* comme bridge vecteur.

3.1 : Contenu du chapitre.

Ce chapitre correspond à une revue systématique de différents aspects de l'éco-épidémiologie d'*Ae. albopictus* : La capacité d'exploitation des gîtes naturels, le comportement trophique, le nombre d'arbovirus pour lesquels *Ae. albopictus* est jugé compétent, les virus pour lesquels des infections naturelles d'*Ae. albopictus* ont été reportées et ceux pour lesquels une transmission transovarienne a été démontrée. Enfin nous essayons de quantifier pour certains de ces arbovirus, le risque de transfert à l'homme via *Ae. albopictus*.

3.2 : Contexte.

Parmi les maladies infectieuses émergentes, on retrouve un certain nombre de maladies transmises par des moustiques (Mosquito Borne Diseases). Pour ce groupe, les phénomènes d'émergence sont croissants du fait des perturbations environnementales et le phénomène de « globalisation ». Les changements écologiques induits par l'homme, ainsi que l'internationalisation du transport des personnes et des marchandises produisent un impact sur les communautés de moustiques enzootiques et, facilitent l'émergence et la propagation des pathogènes.

Comprendre et élucider les mécanismes à l'origine de l'émergence des agents pathogènes enzootiques, et en particulier des arbovirus, et les processus par lesquels ces agents pathogènes initient des cycles inter-humains de transmission, sont cruciaux. Le but est d'améliorer les systèmes de surveillance visant à prévenir les crises sanitaires.

Dans ce contexte, il est fondamental de définir et comprendre le rôle potentiel de certaines espèces susceptibles de jouer un rôle de pont entre la sphère animale, qui abrite les arbovirus, et la sphère anthropique.

Dans cette revue de la littérature, nous formulons l'hypothèse qu'*Ae. albopictus* peut jouer le rôle de pont (utilisé sous le terme « bridge-vector ») et ainsi faciliter l'émergence d'arbovirus enzootiques.

Pour répondre à l'interrogation posée, nous avons défini le concept de « bridge-vector » au regard de certains traits biologiques et écologiques (capacité d'exploitation de gîtes naturels forestiers, capacité à piquer des animaux forestiers), mais aussi de sa compétence vectorielle vis-à-vis des arbovirus en général. La quantification de ces différents paramètres permet d'évaluer pour la première fois un risque de transfert d'arbovirus enzootiques par cette espèce. Pour cela nous avons réalisé une revue qui a pour objectifs d'évaluer : 1) la capacité d'*Ae. albopictus* à exploiter les sites naturels de reproduction larvaire ; 2) son comportement de pique vis-à-vis des animaux sauvages, des animaux domestiques, et des humains ; 3) sa compétence vectorielle testée expérimentalement pour différents arbovirus et les infections naturelles signalées sur le terrain chez les moustiques ; 4) enfin, nous avons estimé le risque relatif de transfert d'une sélection d'arbovirus de leurs hôtes vertébrés animaux vers l'homme.

3.3 : Méthodologie de recherche d'articles.

Pour répondre à ces objectifs des recherches documentaires ont été effectuées. Tout d'abord sur Google Scholar afin de caractériser les différents types naturels de reproduction. *Aedes albopictus* a été trouvé, à travers les mots-clés "Natural breeding sites *Aedes albopictus*" OR "Oviposition sites *Aedes albopictus*" OR "Larval habitats *Aedes albopictus*". De ce fait, 16 articles ont été

trouvés. À partir de ces articles, nous avons répertorié les principaux sites naturels. Ensuite, nous avons recherché dans Pubmed chaque type de sites naturels de reproduction avec les mots clé suivants : (*Aedes albopictus* [Title/Abstract] AND "Breeding type" [Title/Abstract]). Grâce à cette recherche, nous avons quantifié le nombre d'articles et le nombre de détections décrivant la présence de cette espèce dans chacun des sites de reproduction naturels.

Cette recherche s'est poursuivie dans Google Scholar avec les mots clés "blood meal" et "host feeding" suivis de "*Aedes albopictus*". Vingt-deux études ont été sélectionnées sur la base de la fréquence de chaque espèce hôte ou groupe d'hôtes vertébrés (mammifères, oiseaux, reptiles, animaux domestiques, animaux sauvages, mammifères sauvages, oiseaux sauvages, mammifères domestiques, oiseaux domestiques). La base de données a été utilisée pour quantifier l'importance relative de chaque groupe d'hôtes et de certains hôtes pour leur préférence de repas de sang. Nous avons analysé cette préférence indépendamment de la disponibilité de l'hôte, qui a été quantifiée dans très peu d'études, et de l'information environnementale.

Enfin, nous avons commencé par sélectionner des arbovirus potentiellement transmis par *Ae. albopictus* en utilisant le catalogue CDC (<https://wwwn.cdc.gov/arbocat/VirusBrowser.aspx>). Avec tous les arbovirus présentés dans ce catalogue, la recherche dans Google Academic et PUBMED avec les mots clés "Virus name" et "Vector Competence" suivie de "*Aedes albopictus*" a donné 46 articles. Les données de chaque article ont été utilisées pour calculer les taux d'infection, les taux de dissémination, les taux de transmission et l'efficacité de la transmission.

Basée sur l'efficacité de transmission d'*Ae. albopictus* estimée pour chacun des virus sélectionnés, nous avons calculé le risque relatif de transfert

(RRT) de virus induit par *Ae. albopictus* de leur(s) hôte(s) naturel(s) à l'homme selon la formule suivante, adaptée de travaux antérieurs de Kilpatrick et al. 2005, Muñoz et al. 2011 :

$$\mathbf{RRT = TRi \times FAi \times FHi}$$

Où,

TRi = Efficacité de la transmission

FAi = Moyenne de la fréquence d'alimentation sur les hôtes enzootiques
vertébrés

FHi = Moyenne de la fréquence d'alimentation chez l'homme

Pour chaque virus retenu, les hôtes ont été sélectionnés à l'aide des informations disponibles dans le catalogue du CDC et en faisant la distinction entre les virus hébergés par les mammifères, les oiseaux ou par les deux. Pour comparer les résultats du risque relatif, nous avons appliqué la même méthodologie et estimé les résultats pour des « bridge vector » connus pour être efficaces pour la transmission d'un virus donné. Nous avons utilisé pour ce faire les couples *Culex pipiens* * West Nile virus, *Aedes simpsoni* * Yellow Fever virus and *Haemogogus leucocelenus* * Yellow Fever virus.

3.4 : Conclusion.

Dans cette étude nous avons évalué la capacité d'*Ae. albopictus* à coloniser des sites de reproduction naturels, son appétence pour les sources de sang animale et son efficacité globale pour la transmission des arbovirus. Nous avons estimé un risque de transfert relatif pour les arbovirus considérés comme potentiellement transmis par *Ae. albopictus*.

Par rapport à la capacité d'*Ae. albopictus* à pondre dans les gîtes naturels, notre analyse indique que les coques de noix de coco, les broméliacées et les

sections de bambou sont utilisées aussi communément que les trous d'arbres. Nous avons observé que les trous de rochers et les aisselles de feuilles engainantes étaient parmi les gîtes naturels les moins exploités par ce moustique.

Nos résultats ont également confirmé son comportement opportuniste de piqûre ainsi que sa préférence marquée pour les mammifères, et en particulier pour les humains (humains = 62%, non humains = 31%) par rapport aux autres groupes et en particulier les oiseaux (4%). De nombreuses recherches ont confirmé cet opportunisme, comme lors d'expérimentations de choix d'hôtes entre l'homme et plusieurs animaux (Delatte et al 2010). De nos analyses, les oiseaux sont apparus comme un groupe non préférentiel parmi. D'après la proportion de repas de sang, les animaux domestiques (25%) devraient être considérés comme préférentiels en comparaison avec les animaux sauvages (10%).

Concernant l'analyse de la compétence vectorielle *Ae. albopictus* a été décrit dans la littérature comme susceptible de développer une infection pour un grand nombre d'arbovirus (34 à notre connaissance). Mais sur la base des preuves publiées, concernant la compétence du vecteur, nous n'avons pu confirmer la transmission pour seulement 13 arbovirus. L'estimation du risque relatif de transfert a mis en évidence plusieurs virus possédant un potentiel d'émergence par *Ae. albopictus*, tels que Ross River, La Crosse, l'Encéphalite Équine Vénézuélienne, l'Encéphalite Équine de l'Est, Potosi, la Fièvre de la Vallée du Rift, la Fièvre jaune et le virus du Nil occidental, l'Encéphalite japonaise et Mayaro.

Du fait de l'absence de standardisation entre les différentes études d'infections expérimentales (méthode d'innoculation des virus, titre des virus,

durée d'incubation), il est difficile d'avoir une estimation fiable de la compétence vectorielle et de procéder à des comparaisons entre les virus. De la même manière, l'estimation du risque de transfert de ces arbovirus ne représente qu'une estimation et doit être interprétée avec prudence. Mesurer la capacité d'*Ae. albopictus* à coloniser des gîtes dans les environnements forestiers, à se nourrir sur la faune sauvage, et y trouver une source d'infection par des arbovirus est fondamental pour tenter de prédire les espèces virales ou groupe d'arbovirus pour lesquelles *Ae. albopictus* pourrait constituer un potentiel « bridge vecteur », et ainsi limiter l'impact de nouvelles émergences arbovirales.

3.5 : Article 1.

Is *Aedes albopictus* an efficient bridge vector for zoonotic arboviruses?

DRAFT

Pereira dos Santos Taissa¹, Roiz David¹, Ricardo Lourenço de Oliveira² and Paupy Christophe¹

Authors' affiliations:

¹Laboratoire MIVEGEC, IRD, CNRS, Univ. Montpellier. Centre IRD de Montpellier, 911, Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France; ²LATHEMA, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.

Email addresses:

TPDS : tayssadnz@gmail.com

DR : david.roiz@ird.fr

RLO : lourenco@ioc.fiocruz.br

CP : christophe.paupy@ird.fr

***Correspondence should be addressed to:**

tayssadnz@gmail.com; christophe.paupy@ird.fr

Abstract

The mosquito-borne diseases are increasing due to human disturbances of natural ecosystems combined with the globalization of trade and displacements. These anthropic changes impact mosquito community by modulating ecological traits helping “spill-over” of zoonotic pathogens, especially at interface between natural and human environments. Planetary *Aedes albopictus* invasion is observed across urban to natural settings in newly invaded areas. Such a scenario could help interactions of *Ae. albopictus* with wildlife including reservoirs of enzootic arboviruses. To evaluate the potential of this species to act as a bridge vector between wildlife and humans, we performed a bibliographic research and analysis focusing on three components for assessing the ability of a mosquito to ensure interspecies transfer of arboviruses: 1) the capacity to exploit natural larval breeding sites, 2) blood-feeding behaviour and 3) the vector competence for arboviruses. We assessed the relative risk of arbovirus transfers related to *Ae. albopictus*. Our work confirmed that *Ae. albopictus* has the capacity to colonize natural breeding sites. We quantified the opportunistic feeding behavior with a preference for human blood sources. Of all the potential arboviruses studied, 13 viruses are confirmed to be experimentally transmitted. We estimated the relative transfer risk by *Ae. albopictus* of 10 of them.

keywords: *Aedes albopictus*, ecological plasticity, blood-feeding, bridge vector, arboviruses.

Introduction

The human alteration of Earth's natural systems has become a great concern and a threat to the health of humanity, being these impacts likely to drive the majority of the global burden of disease over the coming century (Whitmee et al. 2015). In fact, during the last decades, the burden of Emerging Infectious Diseases (EIDs) has increased to represent a substantial overall threat to global health, security and economy growth, being most of them (75%) zoonotic, mostly of wildlife origin (Taylor et al. 2001, Jones et al. 2008). The risk of zoonotic emergences is considered high in tropical forest regions associated with a range of underlying facilitating factors in particular to high vertebrate species diversity and agricultural land use changes (Allen et al. 2017). Understanding mechanisms of disease emergence allows to develop early detection and control programs, reducing disease incidence and economic burden (Karesh et al. 2012). Zoonotic pathogens can be transmitted from animals to humans directly or indirectly when arthropod vectors are needed to accomplish their life cycle (agent of vector-borne diseases, VBDs). Zoonotic VBDs are maintained in enzootic cycles and can be transmitted from animal reservoir populations to sympatric human population or to domestic animals during "spill-over event", and borrow an inverse way during "spill-back event" (Taylor et al. 2001, Vasilakis et al. 2011). The global emergence of these VBDs is helped by international travel and trade, after the local emergence driven by a combination of environmental changes that are not yet completely understood (Kilpatrick and Randolph 2012). Research is urgently needed to understand the potential of these pathogens to emerge in the future, to identify the critical geographic areas where early warning systems have to be implemented to mitigate their impacts on human health (Weaver and Reisen 2010).

Here, we focus on zoonotic arboviruses (arthropod-borne viruses) transmitted by mosquitoes, being part of enzootic cycles evolving independently from mankind in wildlife (or domestic animals) as their amplification hosts for a further spill-over to humans (Go et al. 2014) mainly in tropical forest environments (Weaver and Barrett 2004). Some of them, as epidemic *Aedes*-borne viral diseases (Dengue, Chikungunya, Zika and Yellow fever) have adapted to epidemic cycles where viremic humans became the source of infection, spreading in urban areas where *Aedes aegypti* and to a lesser extent, *Aedes albopictus* (Gubler 2009, Kamgang et al. 2010) are ensuring the human to human transmission (Weaver 2005). The burden of *Aedes*-borne diseases is dramatic since the incidence of dengue has increased 30 times over the last 50 years, with about 390 millions of infections reported annually across the world (Bhatt et al. 2012, Guzman and Harris 2015), with dengue, but also chikungunya outbreaks waves resulting in several million cases in the South West Indian Ocean, India and Americas. Zika has worsen the situation (Staples and Fischer 2014), emerging in 87 countries (or territories) (Hills et al. 2017) causing microcephaly in newborns and becoming a major threat due to its long-term sanitary and economic impact especially in Latin America (Zanluca et al. 2015). Even if these diseases occur in an independent urban cycle, enzootic cycles still remain essential sources of pathogens and/or vectors that can be introduced, adapt, and disperse, causing further severe threats such as during the recent re-emergence of the Yellow Fever Virus (YFV) in Brazil, Angola and the Democratic Republic of Congo (Taylor et al. 2001, Ahmed and Memish 2017, Possas, Martins, et al. 2018). For this virus, both spill-over and spill-back events involving mosquito bridge vectors has been described in tropical Africa (for *Aedes africanus*, *Aedes simpsoni* or *Aedes fuscifer*) and America (for *Haemagogus* and *Sabethes*). Later, this virus

has moved to villages or cities, where the transmission is still supported by epidemic vectors such as *Aedes aegypti* (Cordellier 1991, Klitting et al. 2018) in Africa. Therefore, bridge vectors play key roles in early processes leading to the emergence of enzootic viruses before initiating urban transmission cycles (Weaver and Reisen 2010, Vasilakis et al. 2011).

We define a bridge vector as an “appropriate hematophagous arthropod” ensuring the biological transmission of a pathogen across different landscapes and its circulation between enzootic, domestic animal and human hosts, and therefore taking part in both enzootic and epidemic cycles. When a bridge vector is lacking, the transmission of the pathogens remains restricted to a particular landscape within the enzootic cycle and among sylvatic hosts/reservoirs. To summarize, the bridge vector is the key that interconnects usual animal reservoirs to new vertebrate hosts including humans, and that allows both spill over and spill-back events. The bridge vector basically shows several bio-ecological traits increasing risks for pathogen transfers, that mainly related to their ecological distribution, blood feeding behavior and vector competence. **Ecological habitats:** High ecological and physiological plasticity favor the dispersal of the vector and its establishment across different ecosystems, landscapes or habitats (e.g. forest/rural/urban, forest/savannah, ground/canopy, natural/anthropic breeding sites and shelters). **Blood feeding behavior:** A low specificity in blood-meal sources choices and an opportunistic feeding behavior involving multiple hosts increase the probability of contact between the vector and animal reservoirs and interspecies transfer of pathogens. This probability also depends of both vector and host density and of the host defensive behavior. **Vector competence:** The biological transmission of a pathogen by a bridge vector implies this last be able to

ensure its replication/multiplication, dissemination and retransmission to subsequently bitten vertebrates. Arthropod species that meet high vector competence levels for a large panel of pathogens represent particularly suitable candidates to act as bridge vectors.

Here, we focus on the role as a bridge vector of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, an invasive vector species native from Asian tropical forest and nowadays present in all the continents (Paupy et al. 2009), and that has become a major concern for public health authorities. In its native area, sylvatic populations of *Ae. albopictus* completed its biological cycle by exploiting wild animals as blood sources and natural water containers (as tree holes, bamboo stumps or rocks holes) as oviposition sites in the woods (Hawley 1988), preferring the edge of the forests (Hawley 1988). The capacity to colonize artificial man-made containers (together with its capacity to develop egg-resistant, or diapausing eggs) led to the domestication of this mosquito. Its ecological plasticity to several habitats, its passive dispersion by the global transport of tires and inside cars (Eritja et al. 2017), and additionally the inefficiency of *Aedes* control programs has allow *Ae. albopictus* to be considered as one of most invasive species of the world (Hawley 1988, Paupy et al. 2009). In native and newly colonized areas, it has been found in urban, rural and forest habitats, but unclear information is known of its natural breeding sites and its presence in forested environments and there is no previous analysis of its presence in natural breeding sites in the invaded territories. In general, *Ae. albopictus* is considered as an opportunistic feeder that appears to be attracted to mammal and particularly to humans rather than to other hosts (Savage et al. 1993, Pereira dos Santos, Roiz, de Abreu, et al. 2018). But to our knowledge, there has never

been done a detailed and quantified analysis of the host preferences of the tiger mosquito.

In relation to epidemic virus transmission, *Ae. albopictus* was considered the primary vector for CHIKV, DENV and ZIKAV in Gabon, Central Africa (Leroy et al. 2009, Grard et al. 2014), for DENV and CHIKV in la Réunion island (Delatte et al. 2010), and for CHIKV in Madagascar and Mayotte (Flahault et al. 2007, Delatte et al. 2010). In Europe, it has been incriminated in Italy and France during CHIKV and DENV outbreaks (Rezza et al. 2007, Venturi et al. 2017) and in Japan for DENV transmission (Sawabe 2015). There is a potential risk of outbreaks in many other areas linked to this mosquito, for example, in Brazil or USA where *Ae. albopictus* is widespread (Carvalho et al. 2014) (Pessanha et al. 2011, Pancetti et al. 2015) (Vanlandingham et al. 2016). It has been considered as capable of developing infection of up to 32 arboviruses (Paupy et al. 2009, Staples and Fischer 2014, Vanlandingham et al. 2016) but, to our knowledge, no clear demonstration of its ability to transmit all of them has been done until now.

In this work we hypothesize that *Ae. albopictus* may have an active role as a bridge vector for the transfer from vertebrate hosts to humans (spill-over events) and therefore, to enzootic arbovirus emergence. For this aim, we reviewed and valued: 1) The capacity of *Ae. albopictus* to exploit natural breeding sites (as a proxy for its establishment in rural/sylvatic/forested areas); 2) Its feeding behavior with regard to human, domestic or wild animals (as a proxy for the contact among vertebrate hosts to humans); 3) Its vector competence assayed experimentally for different arboviruses and the natural infections reported from the field in mosquitoes (as a proxy for its potential for virus transmission in field). Finally, we estimated the relative risk transfer from vertebrate hosts to humans for a set of

selected arboviruses (potential spill-over transmission risk).

Results

Natural breeding sites

Based on the literature search, we found 57 articles that quantify the number and type of natural breeding sites. Thirty of them were excluded because the articles that did not quantify the number of times the breeding sites were found positive) retaining 27 articles reporting studies carried out in areas where *Ae. albopictus* is native (x10) and in areas (i.e. colonized areas) where the species is considered as invasive (x17). *Aedes albopictus* was mainly reported in coconut shells (54.7%), bromeliads (19%), bamboo stumps (8.3%), tree holes (8.2%), palm leaves (3.6%), rock holes (3.2%), leaf axils (1%) and sporadically (less than 1%) in other natural breeding sites, as snail shells, palm bracts, dead leaf on ground, cacao shells, dead cow horns, puddles, ground cavities and hollow logs. Coconut shells and tree holes were mostly represented (in 11 articles each), followed by bamboo stumps, bromeliads, rock holes and leaf axils (in 7 articles each), followed by the other natural breeding sites (each one in 1-2 articles), results are presented in Figure 1. In the native area, most of reported natural breeding sites are coconut shells (83%), followed by bamboo stumps (11%), tree holes (5%), leaf axils (1%) and rock holes. In the colonized areas, a great diversity of breeding sites was recorded bromeliads (50.8%), tree holes (13%), palm leave (9.6%), rock holes (8.4%), coconut shell (8%), bamboo stumps (3.8%), leaf axils (1%), palm bracts (1.2 %), snail shell (1.7%) and others <1% each.

Feeding behavior

Our quantification of the feeding behavior indicates that *Ae. albopictus* has

mainly been reported as a species preferring mammals (including humans) as blood sources with the mean and standard deviation of the (92.0%± 8) rather than birds (8%± 8) and others animals 3.7% ± 1.7. Among mammals, blood meals were mainly reported from humans (62%) compared to non-human (30%) (Figure 2). From an “interspecies risk of transfer” perspective, it is important to note that the tiger mosquito has more frequently been reported biting domestic animals (25%) compared to wildlife animals (10%) (Figure 3). Importantly, there is a huge variance in the proportion of human blood meals among the different studies (Figure 2 and 3). In relation to domestic or peri-domestic animals, dogs, rodents and rabbits were reported as the main blood sources for *Ae. albopictus*, followed by cats, bovines, chickens, horses and pigs (Supplementary Figure S1).

Natural infection and isolation

In addition to epidemic viruses DENV (serotypes 1, 2, 3), CHIKV and ZIKV (Leroy et al. 2009, Grard et al. 2014, Pancetti et al. 2015), 16 articles has reports of natural infection of *Ae. albopictus* were done only for seven arboviruses: CVV (2 articles), EEEV (1 article), KEYV(1 article), LACV(4 article), POTV (3 articles), TENV (1 article) and WNV (3 articles) (Supplementary Table S7). These detections by isolation on cell lines, immunological or molecular methods (Vero cell, direct or indirect immunofluorescence, polymerase chain reaction) give evidences of a contact of *Ae. albopictus* with the hosts of these viruses, but does not predict the possibility of transmission. Thus, studies of vector competence aim at demonstrated whether this mosquito indeed can affect the transmission of the infectious agents.

Vector competence

In the literature search, we found reports of experimental infections of *Ae.*

albopictus with 35 different arboviruses. These viruses were: Arumowot (AMTV), Bujaru (BUJV), Bussuquara (BSQV), Cache Valley (CVV), Chandipura (CHPV), Chilibre (CHIV), Eastern Equine Encephalomyelitis (EEEV), Getah (GETV), Icoaraci (ICOV), Ilheus (ILHV), Itaporanga (ITPV), Jamestown Canyon (JCV), Japanese Encephalitis (JEV), Karimabad (KARV), Keystone (KEYV), Kokobera (KOKV), Kunjin (KUNV), La Crosse (LACV), Mayaro (MAYV), Oropuche (OROV), Orungo (ORUV), Pacui (PACV), Potosi (POTV), Rift Valley fever (RVFV), Ross River (RRV), Salehabad (SALV), San Angelo (SA), St. Louis encephalitis (SLEV), Tensaw (TENV), Trivittatus (TVT), Uganda S. (UGSV), Urucuri (URUV), Venezuelan equine encephalitis (VEEV), West Nile virus (WNV), Yellow fever virus (YFV).

Between these studies, we found important variations concerning the methodology used to performed experimental infections (intra-thoracic inoculation of viruses, oral challenge using infected blood meals), the mosquito strains, the viral strains and loads, the mosquito incubation (time, temperature) and the protocols used to determine mosquito infection and the transmission efficiency. In relation to the virus inoculation methodology, 23 viruses were tested using intrathoracic injection (11 for susceptible studies and 12 viruses for which the vertical transmission was additionally studied) (Supplementary Table TS6). Oral infections were done for 11 arboviruses using feeding procedure on infected hosts, and for 11 arboviruses using membrane feeding methods.

The means of the susceptibility analysis by Intrathoracic Injection was AMTV (100%±0), BUJV (100%±0), PACV (100%±0), CHIV (96.9%±0), KARV (94.1%±0), URUV (94.1%±0), SALV(92.9%±0), ITPV (81.2%±0), ICOV (40.9%±0), ICOV (40.9%±0), ORUV(37.5%±17.67). The transmission analyses from Intrathoracic

Injection was for ORUV(37.5%±17.67) and RVFV(15.9%±7.3).

The means of Infection Rates in *Ae. albopictus* that fed directly on vertebrate hosts or on artificial membranes varied from GETV (100%±0), JCV (96.7%±0), JEV (92%± 10.7), KEYV (91.9%±0), LACV (87.2%±7.38), RRV(80.6%±23.1), POTV (76.7%±31.7), EEEV(75.3%±35.3), VEEV (71.2%±20.4), WNV (63.8%±29.2), RVFV(49.7%±39), YFV(32.5%±21.4) TVTV (28%±28), CHPV (25%±0), MAYV (11.9%±3.3), OROV(6.6%±5.2).

The means of Dissemination Efficiency in *Ae. albopictus* varied from POTV(89.85%±5.9), JCV (86.7%±0), JEV(84,6%±19.9), KEYV (83.8%±0), EEEV (76.98%±35.6), LACV (71.1%±22.9), VEEV (64.78%±22.5), WNV (58.2%±30.8),RVFV (28.02%±23.5), TVTV (24%±0), YFV (21.1%±10.57) to MAYV (4.06%±1.32).

The means of Transmissions Rates in *Ae. albopictus* varied from WNV (82.7%±11.5), VEEV (59.9%±26.5), RVFV (43.3%±49.3), EEEV (40%±0), YFV (37.7%±27), LACV (35.8%±14.25) to JCV (7.7%±0).

The means of Transmission Efficiency in *Ae. albopictus* were WNV(68.6%±), EEEV (57.16%±20.14), RRV(41.39%±16.5), JEV(39.3%±13.5), VEEV (38.1%±), LACV (27.3%±12.87), POTV(14.6%±7), CHPV (12.5%±0), YFV (8.2%±6), JCV (6.6%±0), RVFV (5.2%±3.9), and MAYV (3.5%±0.69). These results are summarized in Figure 4, without taking into account the different mosquito populations used and the viral loads or genotypes.

Thus, transmission was confirmed for 13 virus: CHPV, EEEV, JCV, JEV, LACV, MAYV, ORUV, POTV, RRV, RVFV, VEEV, WNV and YFV. Among then, we calculated the relative transfer risk with the data from Transmission Efficiency and Blood Feeding Behavior only for 10 of these arbovirus viruses. We did not consider reliable transmission efficiency results for CHPV and JCV due to low observation number.

Transmission tests from intra-thoracic inoculation were not considered, as described in the methodology. Thus, three of 13 arbovirus was excluded (CHPV, ORUV and JCV) for the relative risk of virus transfer analyses.

Relative Risk of Virus Transfer

For the 10 selected arboviruses we observed an important variation of Relative Risk of Virus Transfer (RRVT)- values with mean(± standard deviation) ranging from EEEV (10.46±3.5), JEV(7.1±2.3), VEEV (6.9±4.1), LACV (5±2.1), RRV(4.8±1.8), POTV(2.7±1.7), WNV(1.8±0.4), YFV (1.5±1), RVFV (0.9±0.6), and MAYV (0.6±0.1), these results with their variance are showed in Fig. 5. For WNV and YFV RRVT- *Ae. albopictus* was compared to RRVT references values estimated for efficient natural bridge vectors (*Cx. pipiens* for WNV and *Hg leucocelenus* and *Ae. simpsoni* for YFV) e. For WNV, our results indicated the RRVT value calculated for *Culex pipiens* (1.1±1) is comparable to that obtained for *Ae. albopictus* (1.8±0.4). Whereas the RRVT value calculated for YFV in *Ae. albopictus* (1.5±1) is comparable with that for *Ae. simpsoni* (1.7±0.3), the value is higher than that calculated for *Hg. leucocelenus* (0.6±0.1) (Figure 5). The relative risk for West Nile is equivalent to that of *Cx. pipiens*, and for YFV in Africa (for *Aedes simpsoni*) being higher in relation with YFV in America (for *Hg. leucocelenus*).

Discussion and Conclusion

The present work, we focus on *Ae. albopictus*, whose distribution has recently extended across continents and ecosystems, to disentangle its potential role as a bridge vector and potentially favoring transfer of zoonotic arboviruses from enzootic hosts to humans and vice-versa. For this purpose, we evaluated its ability to colonize sylvan exosystems (i.e. and natural breeding sites),

its appetite for animal blood sources, and its global efficiency for transmitting arboviruses. We estimated a relative transfer risk for the arboviruses which were considered as potentially transmitted by *Ae. albopictus*. This mosquito was described as capable of developing infection for a large number of arboviruses (32 to our knowledge) (Vanlandingham et al. 2016), however based on the published evidences about vector competence we demonstrated its transmission for only 13 of arbovirus.

In relation to the capacity of *Ae. albopictus* to establish in natural areas (rural/sylvan environments), tree holes were described as the most common natural breeding sites, also being detected in bamboo stumps and sporadically in rock holes and plant axils (Hawley 1988). Nevertheless, our analysis indicates that coconut shells, bromeliads and bamboo stumps might be as common as tree holes, but rock holes and leaf axils of other plants less common. These results might be biased due to differences across studies related to sampling effort and to environmental characteristics of sampled areas. Therefore, these results should be confirmed by comparison straightforward larval sampling in natural and artificial breeding sites in natural areas and forest edges, and when possible, describing and comparing the productivity of these habitats by pupal sampling, with the same methodology than for quantifying the productivity of anthropic containers in urban areas (Focks 2004). For example, a study done in Rio de Janeiro showed that the percentage of *Ae. albopictus* in bromeliads was 0.18%, demonstrating the low production of larvae of this breeding place. However, studies are lacking that describe the productivity of natural breeding sites in the natural environment or in the interfaces between the natural environment and those modified by man.

Our results also confirmed the opportunistic blood feeding behavior of *Ae.*

albopictus, and its strong preference for mammals, and especially human (humans = 62%, non-human = 31%) compared to other groups as birds (4%). Numerous researches suggested this opportunism, as in laboratory experiments of choice of hosts, where this mosquito bites in preferentially human to other several available animals or in or in field mosquito collection (Delatte et al. 2010, Kamgang et al. 2012, Sivan et al. 2015, Pereira dos Santos, Roiz, de Abreu, et al. 2018). From our analysis, birds appeared as a non-preferential group of hosts. Based on reported proportion of blood meals, domestic and peridomestic animals (25%) should be considered more relevant than wildlife (10%) as sources of zoonotic pathogens for *Ae. albopictus*. However, a limited number of studies were undertaken in natural habitats where wildlife is abundant. Therefore, there is a clear need of further studies in natural areas to describe blood feeding patterns of *Ae. albopictus* and its interaction with wildlife, and if possible, by taking into account the availability of vertebrate hosts using field census procedure and by calculating indexes of feeding preferences (Silver 2008). Such approaches would prevent the underestimation of the potential of *Ae. albopictus* to transmit pathogens from domestic/ sylvatic vertebrate hosts to humans, but also from domestic to sylvatic vertebrate hosts, and vice versa. We highlighted a huge variance in the proportion of human blood meals, a relevant factor for calculating the vector capacity, the disease reproduction rate (R_0) and the spill-over risk, that may be determined by numerous parameters that are still not completely understood (Silver 2008). Altogether, we presented here, for the first time, quantified results about the reported blood meal behavior of *Ae. albopictus*. (Acrecentar o trabalho de sivan).

Based on vector competence and blood meal studies, the estimation of the relative transfer risk highlighted several

potential viruses for emergence like Eastern equine encephalitis, Japanese encephalitis, Venezuelan equine encephalitis, La Crosse, Ross River, Potosi, West Nile, Yellow fever, Rift Valley fever and Mayaro in descending order of importance. However, it is worth emphasizing that the risk analysis is influenced by the availability of studies that have performed analyzes of virus transmission. For example the low number of studies with data available for the transmission efficiency of Mayaro or Yellow fever influences the risk analysis. No data are available for important arboviruses such as Western equine encephalitis, Oropouche or O'nyong'nyong virus.

An important limitation of the present work related to the great methodological variation and to the lack of standardization of protocols used to assess vector competence of *Ae. albopictus*. Vector competence to a such arbovirus is influenced by genetic factors of both the mosquito population and virus strain as the geographical genetic origin of the vector population or the interaction between vector and arbovirus genotype (Failloux et al. 2002, Lambrechts et al. 2009). Thus, the intraspecific genetic variability in mosquito species/populations, as well as the intra and interspecific variability of arbovirus can affect vector competence and risk estimations. External factors such as the incubation temperature can affect the vector competence and consequently the transmission and analysis of the risk (Zouache et al. 2014).

Other factors interfering in vector competence results are the way of ingesting the virus infected blood (in vivo or in vitro), the viral load concentration or the sensibility of method to detect virus in the mosquito body, or saliva. Therefore, the relative Risk of Virus Transfer must be treated with caution. Because it is difficult to draw more robust conclusions since the primary data used for the calculation are influenced for many

factors. We are aware that our study is limited for methodological differences among analyzed articles, and also because the risk of arbovirus emergence is a multifactorial process and it is actually impossible to estimate the interaction of all the factors with the limited evidences available in the bibliography. Thus, more standardized studies of vector competence and blood feeding preferences are necessary. In this sense the project Infravec2 (<https://infravec2.eu>) is an important international initiative that one of the themes of which is the standardization of methods.

Data from the literature show that *Ae. albopictus* has an ability to 1) colonize forest environments and 2) have possible interactions with domestic animals and wildlife, suggesting a potential for interaction with animal viruses. Such a risk is particularly high in areas considered hotspots of biodiversity, as is the case of forests of the Congo and the Amazon Basins. The presence of *Ae. albopictus* in small towns and hamlets the Amazon Forest highlights the potential of spill-over of some arboviruses that cause human disease, as Oropouche, Yellow fever or Mayaro (Pereira dos Santos, Roiz, de Abreu, et al. 2018). In Brazil *Ae. albopictus* populations are experimentally competent for YFV transmission and the genome of this virus was found in this mosquitoes (Couto-Lima et al. 2017, Possas, Lourenço de Oliveira, et al. 2018). In Africa, numerous arboviruses might be investigated to clarify the potential transmission and emergence facilitated by *Ae. albopictus*, as wild CHIKV (Ngoagouni et al. 2017). In the United States, where this species is widespread, its potential role in La Crosse, Eastern equine encephalitis, West Nile and Potosi transmission must be investigated (Mitchell et al. 1992, Gerhardt et al. 2001, Vanlandingham et al. 2016). In Asia and Oceania, there is a potential for inter-species transmission of Japanese encephalitis, and Ross River that is necessary to be evaluated. It is important to take into

account that risk of arbovirus emergence is dynamics and in continuous evolution because mosquito populations and viruses genetics and the possibility of their contact vary according to time and place and adaptation could be expected, in particular for invasive pathogens and vectors (Amraoui et al. 2018). In fact, in the Indian Ocean, the interaction between *Ae. albopictus* and CHIKV led to the selection of a strain that is more susceptible to infecting vectors and spreading around the world. Studies on mutation-selection for more susceptible strains of arboviruses are still limited and can be useful for predicting spill-over events (Tsetsarkin and Weaver 2011). Also, it is necessary to evaluate vector competence with as many strains as possible in order to maximize viral diversity, if possible strains isolated from animals.

The diversity of arboviruses for which *Ae. albopictus* is competent and the presence of this mosquito in natural habitats or forest edge makes it a potential bridge vector at least for 13 viruses (Paupy et al. 2009, Vanlandingham et al. 2016). *Ae. albopictus* is capable of feeding on several animal groups (Delatte et al. 2010). These associated features make *Ae. albopictus* a possible bridge vector of these or emerging arbovirus for man or among species producing spill-over or spill-back events. We hope that our approach encourage developing further researches to disentangle this risk, in field and in laboratory, with the aim to prevent the emergence of zoonotic diseases and the potential increase on the sanitary and economic burden.

Material and Methods

Natural breeding sites

First, a literature search was done on Google Scholar to characterize on which types of natural breeding sites *Ae. albopictus* was found, through the keywords "Natural Breeding sites *Aedes albopictus*" OR

"Oviposition sites *Aedes albopictus*" OR "larval habitats *Aedes albopictus*". As a result, 16 articles were found (Supplementary Table S1). From these articles we listed the main natural breeding sites found, being: bamboo stumps; bromeliads; coconut shells; leaf axils; rock holes; tree holes, snail shells, cacao shells, puddle, dead cow horns, dead leaf on ground, ground cavity, hollow log, palm bracts and palm leaves. Secondly, we searched within Pubmed with each type of natural breeding site with the following words: (*Aedes albopictus* [Title/Abstract] AND "Breeding type" [Title/Abstract]). Through this search, we aimed to quantify the number of articles and the number of detections that described the presence of this species in each of the natural breeding sites (Supplementary Table S2). We excluded the articles that did not quantified the number of times the breeding sites were found positive.

Feeding behavior

A literature search was done in Google Scholar with the key words "blood meal" and "host feeding" followed by "*Aedes albopictus*" in Google Scholar. We did not consider three studies as being not reliable: Gingrich and Williams, that did not test for human blood meals and representing a potential bias of results, the study performed in a zoo by Tuten et al and that of Hess et al., 1968 that was exclusively carried out in a bird areas on Hawaii Island. Twenty two studies were finally selected (see references and details for each of them in Supplementary Table S3) to built a database of blood feeding preferences based on the frequency of each host species or group of vertebrate hosts (as human, mammals, birds, domestic animals, wild animals). The database was used to quantify the relative importance of each group of hosts and of particular hosts for the blood meal preferences, based on reported of blood meals with the different techniques for animal identification. We analyzed these preferences

independently of host availability, which was quantified in very few studies, and of environmental information (e.g. Urban/Rural/Sylvan habitats)

Vector competence

We started by selecting arboviruses that might be potentially transmitted by *Ae. albopictus* using the catalogue of the CDC (<https://wwwn.cdc.gov/arbocat/VirusBrowser.aspx>). With all the arbovirus presented on this catalogue, the search in Google Academic and PUBMED with the key words "Virus name" and "Vector Competence" followed by "*Aedes albopictus*" yielded to 46 articles. Among the articles that were available in the research were selected those who had data on susceptibility, detection, isolation, infection, dissemination or transmission (see Supplementary Table S4 showing virus and bibliographic references). Data of each article were used to calculate infection rates as the number of mosquitoes showing virus infection of gut divided by the number of mosquitoes fed with blood. Dissemination efficiency were calculated as the number of mosquitoes with virus disseminated into legs, wings or head (body) divided by the number of mosquitoes fed with infected blood. Transmission rates were calculated from the number of the mosquitoes that are able to deliver virus with saliva (detection of virus in mosquito saliva, or demonstration of transmission using animal host exposed to infected mosquito bite) divided by the number of mosquitoes with virus disseminated into legs, wings or head (body). Transmission efficiency were calculated from the number of the mosquitoes that are able to deliver virus with saliva (detection of virus in mosquito saliva, or demonstration of transmission using animal host exposed to infected mosquito bite) divided by the number of mosquitoes fed with infected blood (Chouin-Carneiro et al. 2016).

Due to the methodological limitations, we described as infection

analyses (susceptibility) and transmissions the data from the intra-thoracic injection method.

Relative transfer risk

Based on selected viruses and for each of those the transmission efficiency by *Ae. albopictus* was estimated, we calculated the relative risk of virus transfer mediated by *Ae. albopictus* (RRVT-albo) from their natural host to human according to the following formula adapted from previous works (Kilpatrick et al. 2005, Muñoz et al. 2012): Transmission efficiency (TRi) x mean feeding in vertebrate enzootic hosts (FAi) x mean feeding in human (FHi). For each virus, the vertebrate hosts were selected using information available in the CDC catalogue (see above) and separated between viruses transmitted by mammals, birds or both (average frequency of *Ae. albopictus* feeding mammals and birds). We classified by human; mammals or birds group because there is little information available at specific levels or order. So the information is better understood at the class level. To compare calculated values of relative risk of virus transfer we used values of references estimated from efficient natural virus-bridge vector couples: *Culex pipiens* * West Nile virus (WNV), *Aedes simpsoni* * Yellow Fever virus (YFV) and *Haemogogus leucocelenus* * YFV. For this purpose, we made a bibliographic search (as above) to define the feeding behavior of *Cx. pipiens* (24 articles), *Ae. simpsoni* (2) and *Hg leucocelenus* (2) (Supplementary Table S3), and the TRi values for *Cx. pipiens* to WNV (11 articles) and *Ae. simpsoni* and *Hg leucocelenus* to YFV (3 articles) (Supplementary Table S5). Due to the methodological limitations exclude risk relative of virus transfer analysis of the data from the intra-thoracic injection method.

Author Contributions

TPDS, DR, and CP conceived the study. TPDS and DR designed the figures, table, methodology and write. TPDS, DR, RLDO and CP revised the text.

Conflict of the interest:

The authors declare that there is no conflict of interest

Funding support

This study was funded by the French Government's Investissement d'Avenir

Ahmed, Q., and Z. Memish. 2017. Yellow fever from Angola and Congo: a storm gathers. *Trop. Doct.* 47: 92–96.

Alencar, J., C. F. de Mello, L. S. Barbosa, H. R. Gil-Santana, D. de A. Maia, C. B. Marcondes, and J. D. S. Silva. 2016. Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 49: 351–356.

Alencar, J., L. I. A. F. D. E. Mello, F. Morone, S. D. A. Serra-freire, N. D. E. Gallier, P. Se, R. Lucio, and N. Maue. 2013. Flight Height Preference for Oviposition of Mosquito (Diptera: Culicidae) Vectors of Sylvatic Yellow Fever Virus Near the Hydroelectric Reservoir of Simpício, Minas Gerais, Brazil. *J. Med. Entomol.* 50: 791–795.

Allen, T., K. A. Murray, C. Zambrana-Torres, S. S. Morse, C. Rondinini, M. Di Marco, N. Breit, K. J. Olival, and P. Daszak. 2017. Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nat. Commun.* 8: 1–10.

Alto, B. W., and S. A. Juliano. 2001a. Temperature Effects on the Dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Populations in the Laboratory. *J. Med. Entomol.* 38: 548–556.

Alto, B. W., and S. A. Juliano. 2001b. Precipitation and Temperature Effects on Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for Range Expansion. *J. Med. Entomol.* 38: 646–656.

Alto, B. W., L. P. Lounibos, C. N. Mores, and M. H. Reiskind. 2008. Larval competition alters susceptibility of adult *Aedes* mosquitoes to dengue infection. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 275: 463–471.

Amerasinghe, F. P., and T. S. B. Alagoda. 1984. Mosquito oviposition in bamboo traps, with special reference to *Aedes albopictus*, *Aedes notalpis* and *Armigeres subalbatus*. *Insect Sci. Applic.* 5: 493–500.

Amraoui, F., A. Pain, G. Piorkowski, M. Vazeille, D. Couto-Lima, X. de Lamballerie, R. Lourenço-de-Oliveira, and A. B. Failloux. 2018. Experimental Adaptation of the Yellow Fever Virus to the Mosquito *Aedes albopictus* and Potential risk of urban epidemics in Brazil, South America. *Sci. Rep.* 8: 14337.

Andreadis, T. G., J. F. Anderson, L. E. Munstermann, R. J. Wolfe, and D. A. Florin. 2001. Discovery, Distribution, and Abundance of the Newly Introduced Mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Connecticut, USA. *J. Med. Entomol.* 38: 774–779.

Armistead, J., J. Arias, N. Nishimura, and L. Lounibos. 2008. Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in Northern Virginia. *J. Med. Entomol.* 45: 629–637.

Armstrong, P. M., J. F. Anderson, A. Farajollahi, S. P. Healy, I. Unlu, T. N. Crepeau, R. Gaugler, D. M. Fonseca, and T. G. Andreadis. 2013. Isolations of Cache Valley virus from *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in New Jersey and evaluation of its role as a regional arbovirus vector. *J. Med. Entomol.* 50: 1310–4.

Bartlett-Healy, K., I. Unlu, P. Obenauer, T. Hughes, S. Healy, T. Crepeau, A. Farajollahi, B. Kesavaraju, D. Fonseca, G. Schoeler, R. Gaugler, and D. Strickman. 2012. Larval Mosquito Habitat Utilization and Community Dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 49: 813–824.

Bellini, R., A. Alberi, F. Balestrino, M. Carrieri, D. Porretta, S. Urbanelli, M. Calvitti, R. Moretti, and S. Maini. 2010. Dispersal and Survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Males in Italian Urban Areas and Significance for Sterile Insect Technique Application. 1082–1091.

Bhatt, S., P. Gething, O. Brady, J. Messina, A. Farlow, and C. Moyes. 2012. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* 496: 504–507.

Blackmore, M. S., and C. C. Lord. 2000. The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. *J. Vector Ecol.* 25: 212–217.

Boessenkool, S., L. S. Epp, J. Haile, E. Bellemain, M. Edwards, E. Coissac, E. Willerslev, and C. Brochmann. 2012. Blocking human contaminant DNA during PCR allows amplification of rare mammal species from sedimentary ancient DNA. *Mol. Ecol.* 21: 1806–1815.

Bonaldo, M. C., M. M. Gómez, A. A. C. Dos Santos, F. V. S. De Abreu, A. Ferreira-de-Brito, R. M. De Miranda, M. G. De Castro, and R. Lourenço-de-Oliveira. 2017. Genome analysis of yellow fever virus of the ongoing outbreak in Brazil reveals polymorphisms. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 112: 447–451.

Bonizzoni, M., G. Gasperi, X. Chen, and A. James. 2013. The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future Perspectives. *Trends Parasitol.* 29: 460–468.

Bova, J., S. Paulson, and G. Paulson. 2016. Morphological Differentiation of the Eggs of North American Container-Inhabiting *Aedes* Mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 32: 244–246.

Brady, O., M. Johansson, C. Guerra, S. Bhatt, N. Golding, D. Pigott, H. Delatte, M. Grech, P. Leisnham, R. Maciel-de-Freitas, L. M. Styer, D. Smith, T. W. Scott, P. W. Gething, and S. Hay. 2013. Modelling adult *Aedes* mosquito and *Aedes albopictus* survival at different temperatures in laboratory and field settings. *Parasit. Vectors.* 6: 351–363.

Braks, M., N. Honório, R. Lourenço-De-Oliveira, S. Juliano, and L. Lounibos. 2003. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. *J. Med. Entomol.* 40: 785–94.

Brasil, P., G. A. Calvet, A. M. Siqueira, M. Wakimoto, P. C. de Sequeira, A. Nobre, M. de S. B. Quintana, M. C. L. de Mendonça, O. Lupi, R. V. de Souza, C. Romero, H. Zogbi, C. da S. Bressan, S. S. Alves, R. Lourenço-de-Oliveira, R. M. R. Nogueira, M. S. Carvalho, A. M. B. de Filippis, and T. Jaenisch. 2016. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10: 1–13.

Briegleb, H., and S. E. Timmermann. 2001. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Physiological Aspects of Development and reproduction. *J. Med. Entomol.* 38: 566–571.

Brown, H. E., M. Paladini, R. A. Cook, D. Kline, D. Barnard, and D. Fish. 2008. Effectiveness of mosquito traps in measuring species abundance and composition. *J. Med. Entomol.* 45: 517–521.

Brunini, S., D. D. S. França, J. B. Silva, L. N. Silva, F. P. A. Silva, M. Spadoni, and G. Rezza. 2017. High frequency of mayaro virus Igm among febrile patients, central Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 23: 1025–1026.

Calado, D. C., and M. A. Navarro-Silva. 2002. Influência da temperatura sobre a longevidade, fecundidade e atividade hematofágica de *Aedes* (*Slegomyia*) *albopictus* Skuse, 1894 (Diptera: Culicidae) sob condições de laboratório. *Rev. Bras. Entomol.* 46: 93–98.

Carrieri, M., M. Bacchi, R. Bellini, and S. Maini. 2003. On the competition occurring between *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Environ. Entomol.* 32: 1313–1321.

program, Laboratoire d'Excellence "Centre d'Etude de la Biodiversité Amazonienne" (grant ANR-10-LABX-25-01), by the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under ZIKAlliance (Grant Agreement no. 734548), the Pasteur Institute via the PTR (grant n°528) and the ANR PRC TIGERBRIDGE (ANR-16-CE35-0010-01). Taissa Pereira dos Santos DF received a PhD mobility grant (201927/2014-4) from the CNPq "Science without Borders" program.

References:

Carvalho, R. G., R. Lourenço-De-Oliveira, and I. A. Braga. 2014. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 109: 787–796.

Casseb, A., L. Casseb, S. Patroca, and P. Vasconcelos. 2014. Arbovirus: Importante Zoonose na Amazonia Brasileira. 20: 9–21.

Chaves, L. F., G. L. Hamer, E. D. Walker, W. M. Brown, M. O. Ruiz, and U. D. Kitron. 2011. Climatic variability and landscape heterogeneity impact urban mosquito diversity and vector abundance and infection. *Ecosphere.* 2: ar70.

Chaves, O. M., K. E. Stoner, and V. Arroyo-Rodríguez. 2011. Seasonal Differences in Activity Patterns of Geoffroy's Spider Monkeys (*Ateles geoffroyi*) Living in Continuous and Fragmented Forests in Southern Mexico. *Int. J. Primatol.* 32: 960–973.

Chouin-Carneiro, T., A. Vega-Rua, M. Vazeille, A. Yebakima, R. Girod, D. Goinin, M. Dupont-Rouzeyrol, R. Lourenço-de-Oliveira, and A. B. Failloux. 2016. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10: 1–11.

Collantes, F., J. A. Delgado, P. M. Alarcón-elbal, S. Delacour, and J. Lucientes. 2014. First confirmed outdoor winter reproductive activity of Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Europe. *Ann. Biol.* 36: 71–76.

Colless, D. H. 1959. Notes on the culicine mosquitoes of Singapore. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 51: 87–101.

Consoli, R. A. G. B., and R. L. Oliveira. 1994. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

Cordellier, R. 1991. L'épidémiologie de la fièvre jaune en Afrique de l'Ouest. *Bull. World Health Organ.* 69: 73–84.

da Costa, V. G., V. C. de Rezende Féres, M. V. Sapovich, J. B. de Lima Gimaque, and M. L. Moreli. 2017. Silent emergence of Mayaro and Oranje viruses in humans in Central Brazil. *Int. J. Infect. Dis.* 62: 84–85.

Costanzo, K. S., K. Mormann, and S. A. Juliano. 2005. Asymmetrical competition and patterns of abundance of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 29: 997–1003.

Couto-Lima, D., Y. Madec, M. I. Bersot, S. S. Campos, M. D. A. Motta, F. B. Dos Santos, M. Vazeille, P. F. Da Costa Vasconcelos, R. Lourenço-De-Oliveira, and A. B. Failloux. 2017. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. *Sci. Rep.* 7: 4848.

Cupp, E. W., H. K. Hassan, X. Yue, W. K. Oldland, B. M. Lilley, and T. R. Unnasch. 2007. West Nile Virus Infection in Mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. *J. Med. Entomol.* 44: 117–125.

Cupp, E. W., D. Zhang, X. Yue, M. Cupp, C. Guyer, T. Sprenger, and T. Unnasch. 2004. Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an eastern equine encephalomyelitis virus focus in central Alabama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 71: 272–276.

Daszak, P., A. Cunningham, and A. D. Hyatt. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science* (80-). 287: 443–449.

Davies-Colley, R., G. Payne, and M. Elswijk. 2000. Microclimate gradients across a forest edge. *N. Z. J. Ecol.* 24: 111–121.

Delatte, H., J. S. Dehecq, J. Thiria, C. Domez, C. Paupy, and D. Fontenille. 2008. Geographic Distribution and Developmental Sites of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. *Vector Control Southeast Asia.* 8: 25–34.

Delatte, H., A. Desvars, A. Bouétard, S. Bord, G. Gimonneau, G. Vourc'h, and D. Fontenille. 2010. Blood-Feeding Behavior of *Aedes albopictus*, a Vector of Chikungunya in La Réunion. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 10: 249–258.

Delatte, H., G. Gimonneau, A. Triboire, D. Fontenille, H. Delatte, G. Gimonneau, and A. Triboire. 2009. Influence of Temperature on Immature Development, Survival, Longevity, Fecundity, and Gonotrophic Cycles of *Aedes albopictus*, a Vector of Chikungunya and Dengue in the Indian Ocean Influence of Temperature on Immature Development, Survival, Longevity. *Entomol. Soc. Am.* 46: 33–41.

Delatte, H., C. Paupy, J. Dehecq, J. Thiria, A. B. Failloux, and D. Fontenille. 2008. *Aedes albopictus*, vector des virus du Chikungunya et de la Dengue à la Réunion: Biologie et Contrôle. *Parasite.* 15: 3–13.

Ertija, R., J. Palmer, D. Roiz, I. Sanpera-Calbet, and F. Bartumeus. 2017. Direct Evidence of Adult *Aedes albopictus* Dispersal by Car. *Sci. Rep.* 7: 1–15.

Estrada-Franco, J., and J. Craig. 1995. Biology, disease relationships and control of *Aedes albopictus*. *Pan Am. Heal. Organ.* Washington.

Failloux, A., and J.-P. Hervé. 2003. Bio-écologie et compétence vectorielle d'*Aedes aegypti*, p. 15. In *La Dengue Dans Les Départements Français d'Amérique*.

Failloux, A., M. Vazeille, and F. Rodhain. 2002. Geographic genetic variation in populations of the dengue virus vector *Aedes aegypti*. *J. Mol. Evol.* 55: 653–663.

Faraji, A., A. Egizi, D. M. Fonseca, I. Unlu, T. Crepeau, S. P. Healy, and R. Gaugler. 2014. Comparative Host Feeding Patterns of the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus*, in Urban and Suburban Northeastern USA and Implications for Disease Transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8.

Farajollahi, A., B. Kesavaraju, D. C. Price, G. M. Williams, S. P. Healy, R. Gaugler, and M. P. 2009. Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. *J. Med. Entomol.* 46: 919–25.

Flahault, A., G. Aumont, V. Boisson, X. Lamballerie, F. Favier, D. Fontenille, B. Gauzere, S. Journeaux, V. Lotteau, C. Paupy, M.-A. Sanquer, and M. Setbon. 2007. Chikungunya, La Réunion et Mayotte, 2005–2006: une épidémie sans histoire? *Santé Publique (Paris).* 19: 165–195.

Focks, D. A. 2004. Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. *World Health Organ.*

Fouque, F., M. Vazeille, L. Mousson, P. Gaborit, R. Carinci, J. Issaly, F. Rodhain, and A. B. Failloux. 2001. *Aedes aegypti* in French Guiana: Susceptibility to a dengue virus. *Trop. Med. Int. Heal.* 6: 76–82.

França, L. C., and M. Â. Marini. 2009. Teste do efeito de borda na predação de ninhos naturais e artificiais no Cerrado. *Zoologia.* 26: 241–250.

- Souza, T. M. A., E. L. Azeredo, J. Badolato-Corrêa, P. V. Damasco, C. Santos, F. Petitinga-Paiva, P. C. G. Nunes, L. S. Barbosa, M. C. Cipitelli, T. Chouin-Carneiro, N. R. C. Faria, R. M. R. Nogueira, F. de Bruycker-Nogueira, and F. B. dos Santos. 2017. First Report of the East-Central South African Genotype of Chikungunya Virus in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS Curr.* Staples, E., and M. Fischer. 2014. Chikungunya virus in the Americas-what a vectorborne pathogen can do. *N. Engl. J. Med.* 371: 887-889.
- Tabarelli, M., M. Cardoso da Silva, and C. Gascon. 2004. Forest fragmentation, synergisms and the impoverishment of neotropical forests. *Biodivers. Conserv.* 13: 1419-1425.
- Taylor, L. H., S. M. Latham, M. E. J. Woolhouse, S. M. Latham, and E. Bush. 2001. Risk factors for human disease emergence. *R. Soc.* 356: 983-989.
- Teng, H.-J., and C. S. Apperson. 2000. Development and Survival of Immature *Aedes albopictus* and *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the Laboratory: Effects of Density, Food, and Competition on Response to Temperature. *J. Med. Entomol.* 37: 40-52.
- Tsatsarkin, K. A., and S. C. Weaver. 2011. Sequential adaptive mutations enhance efficient vector switching by chikungunya virus and its epidemic emergence. *PLoS Pathog.* 7.
- Urbanski, J. M., J. B. Benoit, M. R. Michaud, D. L. Denlinger, and P. Armbruster. 2010. The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277: 2683-2692.
- Vanlandingham, D., S. Higgs, and Y.-J. Huang. 2016. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and Mosquito-Borne Viruses in the United States. *J. Med. Entomol.* 53: 1024-1028.
- Vasconcelos, P. F. C., A. P. A. Travassos da Rosa, F. P. Pinheiro, R. E. Shope, J. F. S. Travassos da Rosa, S. G. Rodrigues, N. Dégallier, and E. S. Travassos da Rosa. 1998. Arboviruses pathogenic for man in Brazil. *An Overv. Arbovirology Brazil Neighb. Cities.* 72-99.
- Vasilakis, N., J. Cardoso, K. A. Hanley, E. C. Holmes, and S. C. Weaver. 2011. Fever from the forest: Prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 532-541.
- Vega-Rua, A. 2016. Émergence du virus chikungunya en Amérique et en Europe.
- Venturi, G., M. Di Luca, C. Fortuna, M. Elena Remoli, F. Riccardo, F. Severini, L. Toma, M. Del Manso, E. Benedetti, M. Grazia Caporali, A. Amendola, C. Fiorentini, C. De Liberato, R. Giammattei, R. Romi, P. Pezzotti, G. Rezza, C. Rizzo, V. Giulietta, D. Luca Marco, F. Claudia, R. Maria Elena, R. Flavia, S. Francesco, T. Luciano, D. Manso Martina, B. Eleonora, C. Maria Grazia, A. Antonello, F. Cristiano, D. Liberato Claudio, G. Roberto, R. Roberto, P. Patrizio, R. Giovanni, and R. Caterina. 2017. Detection of a chikungunya outbreak in Central Italy Detection of a chikungunya outbreak in Central. *Euro Surveill.* 22: 1-4.
- Weaver, S. C. 2005. Host range, amplification and arboviral disease emergence. *Arch. Virol. Suppl.* 33-44.
- Weaver, S. C., and A. D. T. Barrett. 2004. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 789-801.
- Weaver, S. C., and W. K. Reisen. 2010. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 85: 328-345.
- Westbrook, C., M. Reiskind, K. Pesko, K. Greene, and L. Lounibos. 2010. Larval environmental temperature and the susceptibility of *Aedes albopictus* skuse (Diptera: Culicidae) to chikungunya virus. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 10: 241-247.
- Westby, K. M., C. Fritzen, D. Paulsen, S. Poindexter, and A. C. Moncayo. 2015. La Crosse Encephalitis Virus Infection in Field-Collected *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, and *Aedes albopictus* in Tennessee. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 31: 233-241.
- Whitmee, S., A. Haines, C. Beyrer, F. Boltz, A. G. Capon, B. F. De Souza Dias, A. Ezeh, H. Frumkin, P. Gong, P. Head, R. Horton, G. M. Mace, R. Marten, S. S. Myers, S. Nishtar, S. A. Osofsky, S. K. Pattanayak, M. J. Pongsiri, C. Romanelli, A. Soucat, J. Vega, and D. Yach. 2015. Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: Report of the Rockefeller Foundation-Lancet Commission on planetary health. *Lancet.* 386: 1973-2028.
- Wilcox, B. a., and D. J. Gubler. 2005. Disease ecology and the global emergence of zoonotic pathogens. *Environ. Health Prev. Med.* 10: 263-272.
- Xavier, D. R., M. de A. F. M. Magalhães, R. Gracie, I. C. dos Reis, V. P. de Matos, and C. Barcellos. 2017. Difusão espaço-tempo do dengue no Município do Rio de Janeiro, Brasil, no período de 2000-2013. *Cad. Saude Publica.* 33: 1-13.
- Xue, R., D. Barnard, and G. Muller. 2010. Effects of body size and nutritional regimen on survival in adult *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 47: 778-782.
- Yoshioka, M., J. Couret, F. Kim, J. McMillan, T. R. Burkot, E. M. Dolson, U. Kitron, and G. M. Vazquez-Prokopec. 2012. Diet and density dependent competition affect larval performance and oviposition site selection in the mosquito species *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasites and Vectors.* 5: 1-11.
- Zanluca, C., V. C. A. De Melo, A. L. P. Mosimann, G. I. V. Dos Santos, C. N. D. dos Santos, and K. Luz. 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 110: 569-572.
- Zouache, K., A. Fontaine, A. Vega-Rua, L. Mousson, J. M. Thiberge, R. Lourenco-De-Oliveira, V. Caro, L. Lambrechts, and A. B. Failloux. 2014. Three-way interactions between mosquito population, viral strain and temperature underlying chikungunya virus transmission potential. *Proc. R. Soc. B, Biol. Sci.* 281: 1792.
- Zuidema, P. A., J. A. Sayer, and W. Dijkman. 1996. Forest fragmentation and biodiversity: the case for intermediate-sized conservation areas. *Environ. Conserv.* 23: 290.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, and C. S. Elphick. 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.* 1: 3-14.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, and G. Smith. 2007. *Analysing Ecological Data*, first. ed. Springer US.

Figures

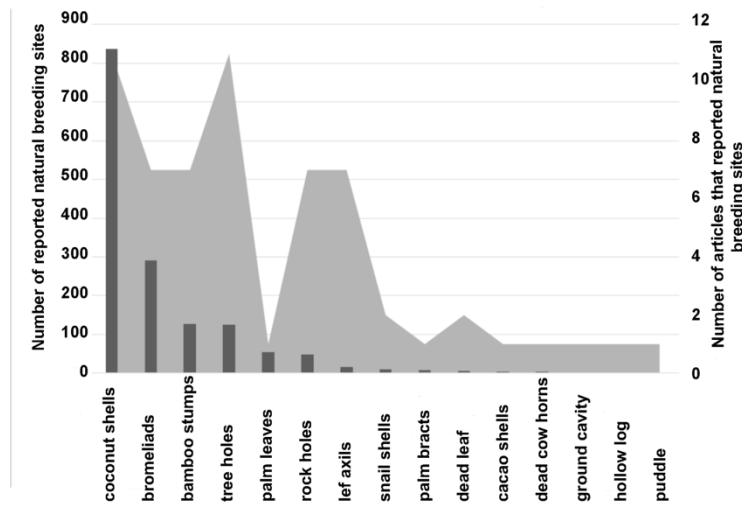


Figure 1: Typology of natural breeding sites exploited by *Ae. albopictus*. Number of reported natural breeding sites (black bars) and number of articles that reported natural breeding sites (grey areas).

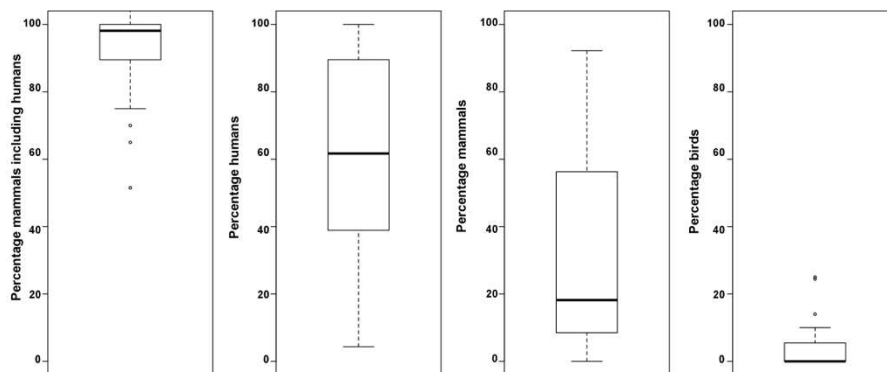


Figure 2. Boxplot with the percentage analysis of the host feedings patterns of *Ae. albopictus* among humans, non-human mammals and birds without taking into account host availability. Black line: median.

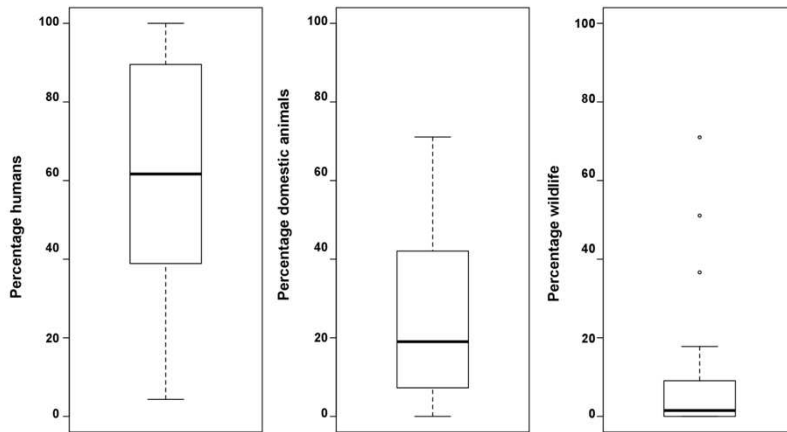


Figure 3. Boxplot with the percentage analysis of the host feedings patterns of *Ae. albopictus* among humans, domestic animals and wildlife without taking into account host availability. Black line: median.

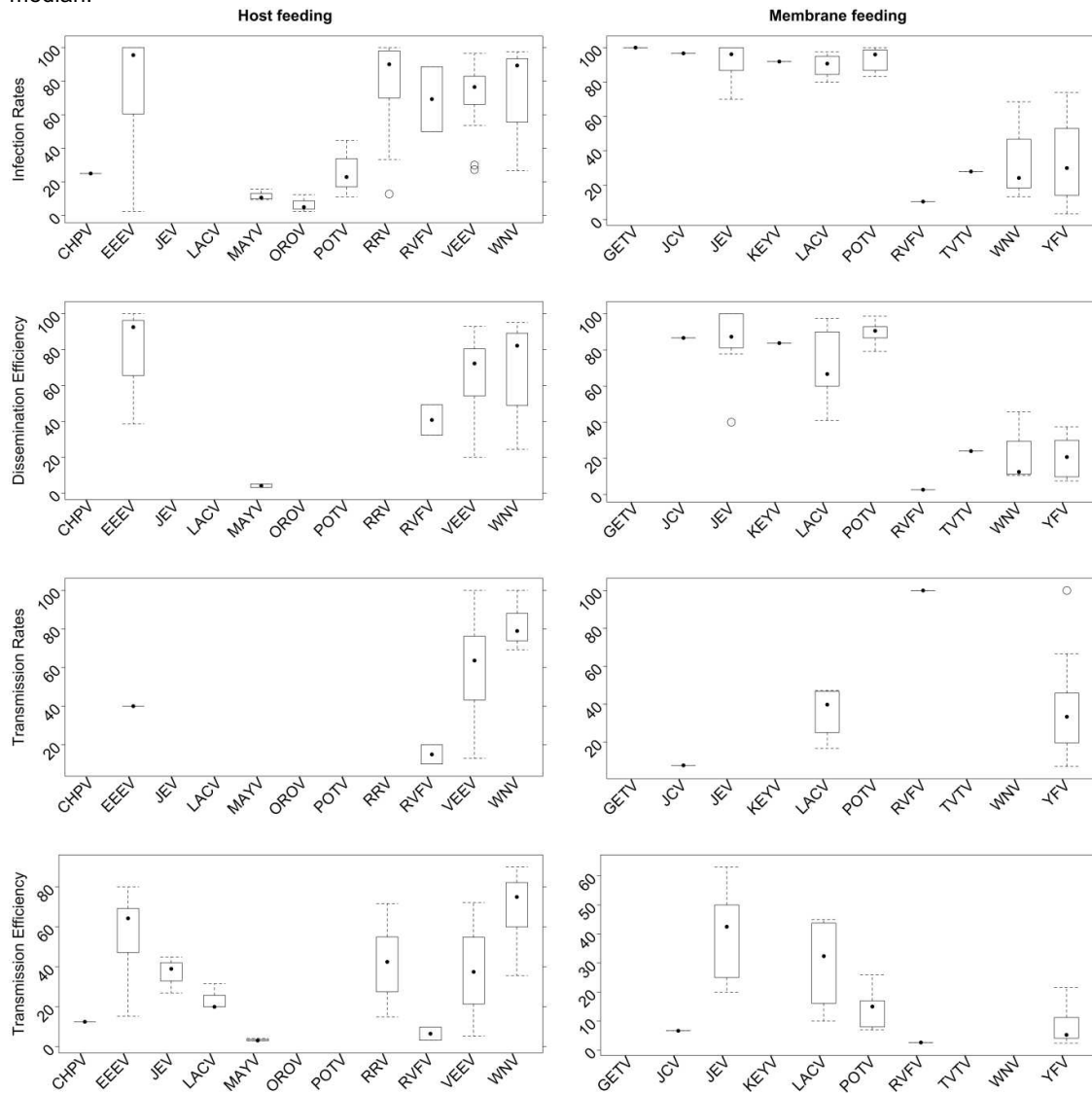


Figure 4: Infection Rates, Dissemination Efficiency, Transmission Rates and Transmission Efficiency, according to arboviruses and inoculation methods in different *Ae. albopictus* populations.

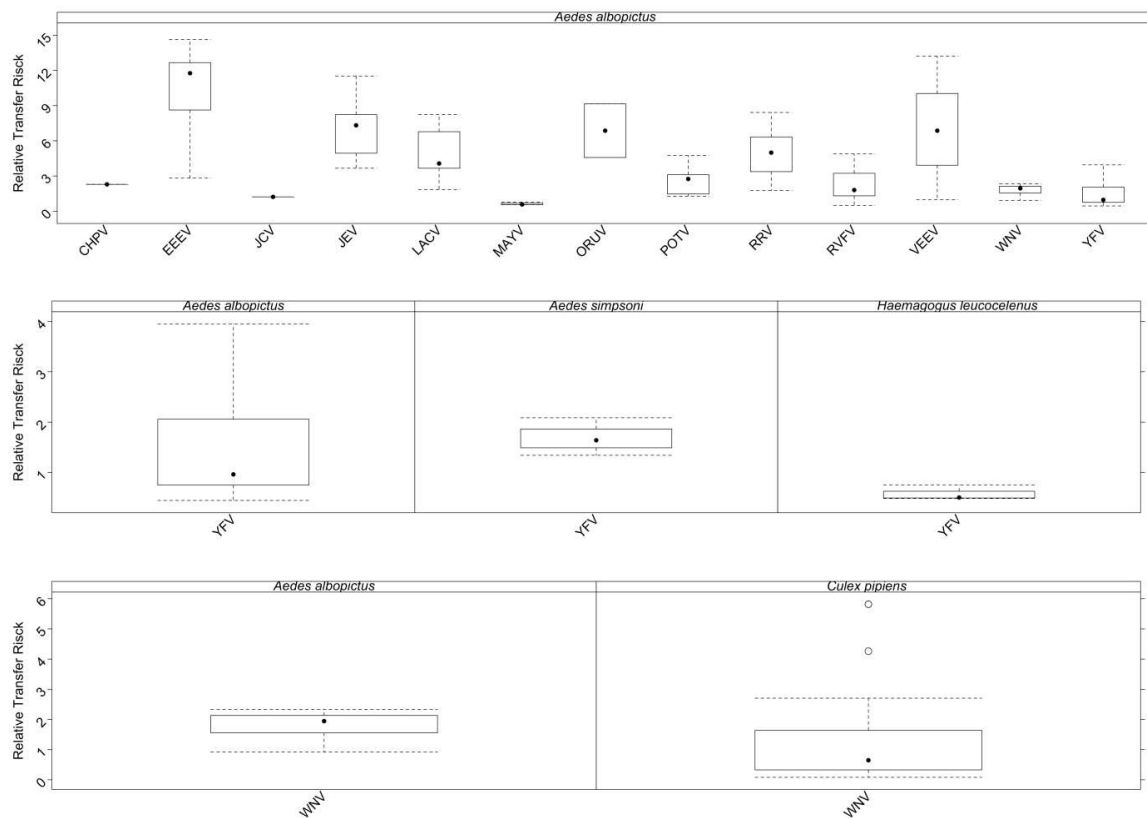


Figure 5. Relative transfer risk of *Ae. albopictus* for several viruses; Relative transfer risk of *Ae. albopictus*, *Ae. simpsoni* and *Hg. leucocelenus* for Yellow fever; *Ae. albopictus* and *Cx. pipiens* for West Nile.

PARTIE 2 : MEMOIRE EXPERIMENTAL.



Piège Bg-Sentinel, Réserve Forestière Adolpho Ducke-2016

Chapitre 4 : Outils Méthodologiques.

4.1 : Contenu du chapitre.

Ce chapitre présente les matériels et méthodes développés et utilisés pour la réalisation de cette thèse. Tout d'abord, nous décrivons les sites d'étude ayant fait l'objet d'un travail préliminaire en 2015, puis ceux dans lesquels un travail complet a été mené en 2016 et 2017.

Nous présentons ensuite les méthodes moléculaires utilisées pour les analyses des repas de sang de moustiques collectés sur le terrain en vue d'étudier les préférences trophiques d'*Ae. albopictus* et de ses espèces accompagnatrices dans les lisières forestières. De même, nous détaillons les méthodes employées pour le criblage d'arbovirus effectué sur des lots de moustiques de terrain. Le chapitre s'achève avec la présentation des outils statistiques utilisés durant ce travail de thèse.

4.2 : Présentation des sites d'étude.

4.2.1 : Etude préliminaire.

Au cours de la période du 19/06 au 21/07 2015, nous avons étudié différents sites d'étude localisés à Manaus et ses alentours. Ces zones couvraient des interfaces entre des environnements forestiers et anthropiques dans des contextes urbains et ruraux de la région amazonienne. Dans ces sites, le travail préliminaire a été conduit en utilisant des pièges BG- sentinel, Mosquitrap ou Ovitrap et des captures sur homme pour constater la présence d'*Ae. albopictus* en bordure de la forêt.

4.2.2 : Travail de terrain réalisé en 2016.

Durant la période du 03/01/16 au 01/06/16 une deuxième série de missions a été réalisée dans trois sites de collecte au Brésil : Réserve Forestière Adolpho Ducke (Manaus-AM), Morro dos Macacos (Goiânia-GO) et Réserve Forestière Pedra Branca (Rio de Janeiro-RJ) (Tableau 3, Figure 7). Ces zones ont été choisies sur la base de la présence 1) de densités élevées d'*Ae. albopictus*, 2) d'une faune sauvage diversifiée en zones forestières bordant les zones anthropisées et 3) de partenaires locaux dotés d'infrastructures nécessaires à l'étude.

4.2.3 : Travail de terrain réalisé en 2017.

Au cours de l'année de 2017, à l'occasion d'une émergence du virus de la Fièvre Jaune dans différents états du Brésil, des travaux de terrain ont été développés dans sept zones d'études additionnelles (Belo Horizonte-MG, Simonésia- MG, Domingos Martins- ES, Serra- ES, Casimiro de Abreu-RJ, Marica- RJ, Salvador- BA). Ces zones, toutes incluses dans les biomes « Mata Atlantica » ou « Cerrado », ont été choisies en bordure de forêt où des cas de Fièvre Jaune ont été reportés chez des singes. La présence d'*Ae. albopictus* dans ces sites n'avait cependant pas été vérifiée en amont (voir Tableau 3, Figure 7 pour les détails).

A)



B)

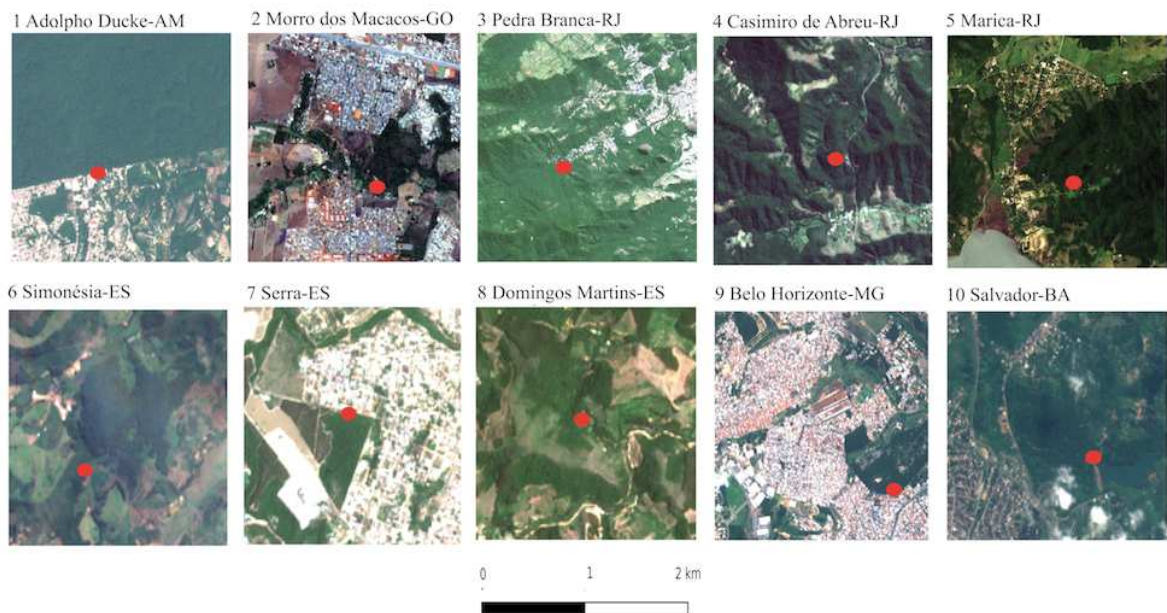


Figure 7 : Sites d'échantillonnage d'*Ae. albopictus* dans dix interfaces « forêt-urbain » au Brésil. A) Localisation des dix sites au Brésil; B) Images satellites montrant chaque site d'échantillonnage sous la forme d'un point rouge. Les images satellites ont été téléchargées à partir de <https://earthexplorer.usgs.gov> et les cartes ont été établies à l'aide de Qgis 2.18.14.

4.3 : Caractéristiques environnementales et épidémiologiques des zones d'étude.

4.3.1 : Manaus.

La réserve forestière d'Adolpho Ducke est située au cœur de la forêt amazonienne (biome Amazonia) et couvre 10 000 hectares (ha) de forêt tropicale humide autour de Manaus. Cette réserve comprend une forêt primaire avec une faune terrestre diversifiée. Plusieurs arbovirus sont endémiques à Manaus et dans ses environs : Le virus de la fièvre jaune (YFV), le virus de la dengue (DENV), le virus Oropouche (OROV) et le virus Mayaro (MAYV) (Mourão et al. 2015).

4.3.2 : Goiania.

Morro dos Macacos (biome Cerrado), près de Goiania, est un fragment forestier entouré d'une mosaïque composée de savanes (cerrado) et de terres agricoles. Nous avons choisi ce fragment de forêt en raison de la présence de primates non-humains dans lesquels le virus de la fièvre jaune avait déjà été signalé. En outre, les virus OROV, DENV et MAYV ont été détectés à Goiania ou ses alentours (Gibrail et al. 2016, Brunini et al. 2017, da Costa et al. 2017).

4.3.3 : Rio de Janeiro.

La forêt de Pedra Branca (biome Mata Atlantica) se trouve dans la ville de Rio de Janeiro qui constitue la deuxième plus grande ville du Brésil et qui présente un intérêt considérable sur le plan commercial et touristique. La ville comprend le parc national de Tijuca, la plus grande forêt urbaine du monde, comprenant 3 972 ha. C'est une forêt secondaire où vit une

diversité limitée de primates non-humains (*Callithrix jacchus* et *Cebus spp*) (Oliveira and Grelle 2012). Rio de Janeiro fait figure de zone clé pour la circulation des virus DENV, ZIKV et CHIKV, et pour le virus YFV jusqu'à la fin des années 1930s (Brasil et al. 2016, Pereira dos Santos et al. 2017, Souza et al. 2017, Xavier et al. 2017, Possas et al. 2018a, Possas et al. 2018b).

4.3.4 : Belo Horizonte.

À Belo Horizonte, ville localisée dans la zone de transition entre les biomes Cerrado et Mata Atlantica, une enquête entomologique à été réalisée dans le fragment de forêt situé dans le jardin botanique de la Fondation Zoobotanica de BH. Sur une superficie de 175 d'ha, 60 ha sont constitués de savanes conservées et de vestiges de forêt atlantique. La forêt constitue une interface avec un quartier très peuplé tandis qu'une autre jouxte les enclos animaliers d'un zoo, comprenant des espèces animales provenant de différentes parties du monde. La forêt est secondaire avec une canopée forestière atteignant environ sept mètres de haut. À côté de la forêt se trouve également la lagune de Pampulha, qui est en fait un lac artificiel construit entre 1936 et 1943 d'une superficie de 247,67 ha. La région a été choisie en raison de la notification d'une suspicion d'épizootie de fièvre jaune.

4.3.5 : Simonésia.

Le fragment de forêt dans la ville de Simonésia est situé dans la campagne de l'état de Minas Gerais, dont la principale activité économique est liée aux plantations de café, de canne à sucre et de haricots. La région

présente un degré élevé de déforestation pour ces activités, et les fragments forestiers qui persistent sont des galeries de forêt atlantique le long des cours d'eau et des patchs forestiers sur les pentes montagneuses. La région a été fortement affectée par l'épidémie de fièvre jaune qui a sévit de 2016 et au début de 2017, avec des dizaines de cas humains (Possas et al. 2018a, Possas et al. 2018b). Le fragment choisi pour l'installation des pièges est situé en limite d'une plantation de café dans une propriété où deux agriculteurs ont contracté le virus. Les collectes ont été réalisées environ 20 jours après l'apparition des symptômes. La forêt, de type secondaire, a une canopée pouvant atteindre 12 mètres. Au cours de la période de travail, nous avons été fortement attaqués par des moustiques des genres *Haemagogus* et *Sabethes*.

4.3.6 : Domingos Martins.

La ville de Domingos Martins se trouve dans une région montagneuse et rurale, et où l'activité économique principale est l'exploitation de fruits comme le raisin, la pomme et le café. La forêt secondaire avec une canopée de 10 mètres, est entrecoupée par des cascades. Dans cette forêt, quatre singes ont été confirmés infectés par le virus de la Fièvre Jaune (Bonaldo et al. 2017). Malgré cela, nous n'avons pas remarqué la présence d'un grand nombre de moustiques au moment des collectes.

4.3.7 : Serra.

Dans la municipalité de Serra, qui est localisée près des côtes, nous avons travaillé dans une zone de transition entre la forêt Atlantique et

l'Océan. Cette zone correspondait à un petit fragment forestier proche d'une usine de traitement de granit, avec un canopée pouvant atteindre 10 mètres. La zone a été choisie en raison de la confirmation récente d'un cas humain de Fièvre Jaune à proximité de la zone de travail. Les principales activités économiques de la région sont liées aux plantations d'eucalyptus et le tourisme.

4.3.8 : Casimiro de Abreu.

Le fragment forestier exploité dans la municipalité de Casimiro de Abreu est situé à proximité de la réserve biologique de Poços das Antas. Il fait partie du biome de la forêt atlantique et abrite, entre autres vertébrés, le tamarin lion doré (*Leontopithecus rosalia*). La région est montagneuse avec l'une des plus grandes forêts continues de la Côte Atlantique, dont le niveau de préservation est très attractif pour le tourisme écologique. La zone de collecte bordait un site où six personnes ont contracté la fièvre jaune. L'activité économique de la région est basée sur l'agriculture familiale avec des plantations de bananes et de manioc.

4.3.9 : Marica.

Maricá est une municipalité de l'état de Rio de Janeiro, le fragment de forêt étudié se situe à la périphérie d'un village et à proximité de la région de Lagos. Malgré la fragmentation intense causée par la spéculation immobilière, nous avons pu sélectionner un grand fragment de forêt qui se termine dans un quartier où un cas humain de fièvre jaune a été confirmé. La forêt est dense, avec une canopée à 20 mètres de hauteur. Nous avons

trouvé une carcasse d'*Alouatta* déjà en état de décomposition au moment de la collecte.

4.3.10 : Salvador.

Le fragment forestier étudié dans la ville de Salvador dans l'État de Bahia est situé à la périphérie d'un réseau urbain complexe. On y trouve des habitations du peuple traditionnel (quilombolas) qui gèrent la forêt dans des systèmes agroforestiers connus sous le nom de «cabruca», où le cacaoyer est planté dans la forêt en profitant de la canopée de plus de 30 mètres.

Tableau 3 : Informations relatives aux sites de collecte.

Ville	État	Latitude	Longitude	Dates des collectes	Biome	Habitants	TM (°C)	PA (mm)
Manaus	Amazonas	3°00'12.78"	59°55'37.86"	20/01 à 25/02/2016	Amazonia	2 500 000	27,4	2 145
Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	22°56'6.57"	43°26'42.19"	12/04 à 18/04/2016	Mata Atlantica	6 300 000	23,3	809
Goiania	Goias	6°40'16.32"	49°22'49.93"	30/04 à 26/05/2016	Cerrado	1 300 000	23,2	1 278
Belo Horizonte	Minas Gerais	19°51'59.29"	44° 0'43.51"	10/02 à 13/02/2017	Cerrado/Mata Atlantica	2 500 000	20,5	1 430
Simonésia	Minas Gerais	19°55'12.06"	41°54'20.23"	16/02 à 18/02/2017	Cerrado/Mata Atlantica	19 421	21,3	1 179
Domingos Martins	Espirito Santo	20°17'12.48"	40°50'14.35"	21/02 à 23/02/2017	Mata Atlantica	34 239	21,5	1 238
Serra	Espirito Santo	20° 6'46.89"	40°11'12.53"	14/03 à 17/03/2017	Mata Atlantica	553 254	24,5	1 110
Casimiro de Abreu	Rio de Janeiro	22°26'33.31"	42°12'30.34"	28/03 à 31/03/2017	Mata Atlantica	29 811	23,2	1 119
Marica	Rio de Janeiro	22°55'24.44"	42°42'27.88"	04/05 à 08/05/2017	Mata Atlantica	153 008	23,3	1 181
Salvador	Bahia	12°49'50.34"	38°27'18.77"	06/06 à 06/06/2017	Mata Atlantica	2 935 986	25,2	1 781

Les zones des transitions entre les biomes Cerrado et Mata Atlantica sont séparés par un « / » dans la colonne biome

4.4 : Stratégies d'échantillonnage.

En 2015, les collectes de moustiques ont été réalisées sous forme d'œufs à l'aide de pièges pondoirs et d'adultes à l'aide de pièges Bg-Sentinel (Biogents AG, Weissenburgstr, Germany) et Mosquitrap (Ecovec

Ltda, Belo Horizonte, Brazil). Dans chaque zone, des pièges Bg-Sentinel ont tout d'abord été installés en bordure de la forêt afin de vérifier la présence d'*Ae. albopictus*. Après confirmation, des pièges pondoirs (entre 125 et 175m) et des pièges Mosquitrap et Bg-Sentinel (entre 0 et 100 m) ont été disposés à différentes distances de la bordure vers l'intérieur de la forêt. Les pièges Mosquitrap et Bg-Sentinel ont été contrôlés toutes les 24 heures afin d'augmenter les chances de capturer des moustiques infectés en évitant la dégradation des particules virales due à l'effet de la chaleur. Nous avons décidé d'utiliser le piège Mosquitrap qui possède une bonne performance pour collecter des moustiques infectés par le virus de la dengue (Pereira dos Santos et al. 2017). Cependant, à la fin de cette première collecte de terrain (préliminaire), nous avons constaté le manque d'efficacité des pièges Mosquitrap en forêt du fait de la mauvaise préservation du corps des moustiques causée par l'excès d'humidité ainsi que la difficulté pour retirer les moustiques du piège. Ainsi nous avons décidé de ne plus les utiliser lors des campagnes ultérieures de collectes de terrain.

En 2016, nous avons utilisé une stratégie d'échantillonnage selon des gradients de pénétration en forêt. A partir du bord de la forêt nous avons tracé cinq lignes parallèles espacées de 25m, chacune pénétrant jusqu'à 900 m à l'intérieur de la forêt (Figure 8). La grille de piégeage a permis de définir 50 points de collectes correspondant aux intersections entre les lignes et les distances.

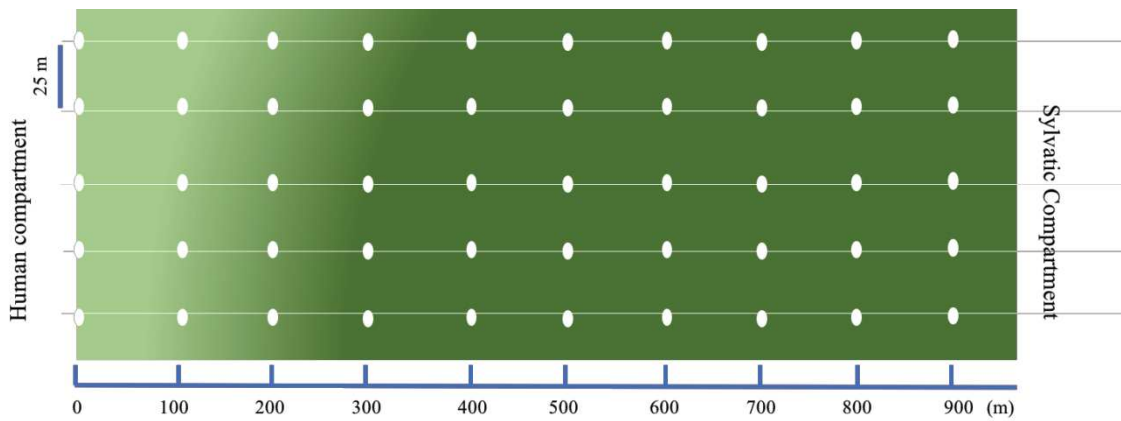


Figure 8 : Grille représentant les positions de collectes en forêt selon un gradient de pénétration. Les points blancs représentent les positions de collectes.

Des pondoirs pièges ont été utilisés afin d'estimer la présence/absence et la pénétration d'*Ae. albopictus* dans l'environnement forestier. Un pondoir piège (Ovitrap, Figure 9) a été disposé sur chacune des 50 positions de la grille afin de recueillir des œufs pendant 10 jours. Les palettes ont été renouvelées après le cinquième jour de l'installation et enlevées le dixième jour. Les œufs collectés ont été mis en eau afin d'obtenir des adultes sur lesquels ont été réalisées les identifications taxonomiques.

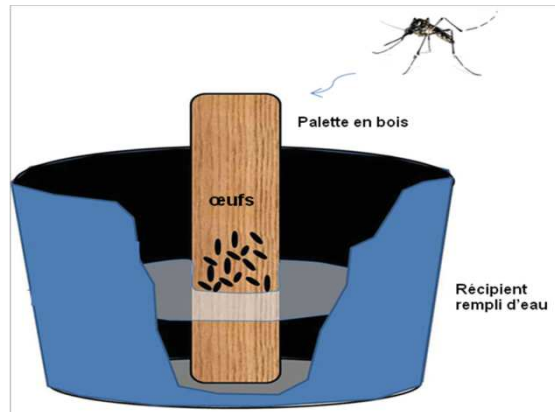


Figure 9 : Représentation schématique d'un piège pondoir. Adapté de http://www.cuencarural.com/higiene_ambiental/82098-dengue-la-importancia-del-indice-de-breteau-ib-en-la-prevencion-y-control/, accédé le 17.03.2014.

Après les 10 jours du suivi avec les pondoirs, nous avons utilisé des pièges à adultes (Bg-Sentinel, Figure 10) permettant d'étudier la dispersion d'*Ae. albopictus* dans la forêt, de capturer des femelles gorgées et des spécimens potentiellement infectés par des arbovirus. Ainsi pour chaque zone de collecte, 15 Bg-Sentinels ont été installés jusqu'à 500 m, sans plan fixe d'échantillonnage afin d'optimiser la collecte de femelles adultes d'*Ae. albopictus* pour un objectif de criblage viral. Il en résulte une variation de l'effort d'échantillonnage par Bg-Sentinel en fonction des distances. Les pièges BG ont été activés pendant 7 jours dans la même position. Chaque 24 heures, les nasses contenant les moustiques ont été renouvelées.

Ainsi, pour chaque zone, nous avons mis en place l'enquête entomologique sur un système de cycles de collectes. Un cycle est défini comme équivalent à 10 jours de suivi des pondoirs (avec changement de palette au cinquième jour) suivis de 7 jours de collectes d'adultes avec les pièges BG. Deux cycles ont été effectués à Adolpho Ducke et Morro dos Macacos et un seul à Pedra Branca.

Les moustiques collectés ont été identifiés morphologiquement, regroupés en lot puis conservés à -80°C en vue des analyses moléculaires permettant d'identifier les repas de sang (sur les spécimens gorgés) et de réaliser un criblage de virus.



Figure 10 : Piège Bg-Sentinel. Les flèches jaunes indiquent la zone d'aspiration des moustiques; Les flèches rouges indiquent la zone d'extraction de l'air qui permet de libérer l'attractif chimique placé à l'intérieur du piège (BG-Lure). Adapté de <http://www.bg-sentinel.com/>, accédé le 17.03.2013.

Sur la base des résultats des collectes effectuées de 2016, la méthodologie d'échantillonnage utilisée lors des collectes de 2017 a été adaptée aux objectifs. En effet, l'objectif principal des collectes de 2017 était d'étudier la présence/absence d'*Ae. albopictus* en bordure de forêts avec où une circulation des virus de Fièvre Jaune et/ou du Zika étaient avérée. La différence de méthodologie tient au fait que 1) seuls 12 pondoires ont été installés (pour un suivi de 10 jours) sur quatre distances tous les 100 mètres entre 0 et 300m (3 pondoires par distance) et 2) seuls 12 pièges Bg-Sentinel ont été utilisés pendant 3 à 5 jours toujours entre 0 à 300 m (Tableau 3).

4.6 : Infections naturelles par des arbovirus enzootiques.

Pour cet objectif, les moustiques collectés ont été disséqués afin de séparer la tête de l'abdomen. Les abdomens ont été regroupés en lots de 2 à 30 individus et broyés dans 200 µl de milieu DMEM supplémenté avec 10% de sérum fœtal de bovin. Les femelles gorgées de sang ont été analysées individuellement. Les broyats ont fait l'objet d'une extraction d'ARNs à l'aide du protocole NucleoSpin RNA isolation (Marcherey-Nagel, cf détails en Annexe 1). Les ARNs extraits ont été rétro-transcrits en cDNAs qui ont été amplifiés par des qPCR spécifiques de différents arbovirus (cf détails de chaque étape en Annexe 2). Ce criblage a été réalisé en collaboration avec le Groupe "Bactéries pathogènes vectorisées et spécificité d'hôtes" (VECTOTIQ) de l'UMR BIPAR ANSES-INRA-ENVA, le laboratoire Arbovirus et Insectes vecteurs de l'Institut Pasteur qui est à l'origine du développement de l'outil de criblage haut-débit que nous avons utilisé. Cet outil permet la détection de 34 espèces (cf tableau 12) d'arbovirus (94 genotypes/serotypes) à l'aide de la technologie Biomark Dynamic Arrays de la société Fluidigm (Tableau 4 et Figure 11). Pour le contrôle positif, le gène de la Béta-actine des arthropodes est amplifié, ainsi qu'un contrôle *Escherichia coli*. Pour le contrôle négatif nous avons utilisé de l'eau.

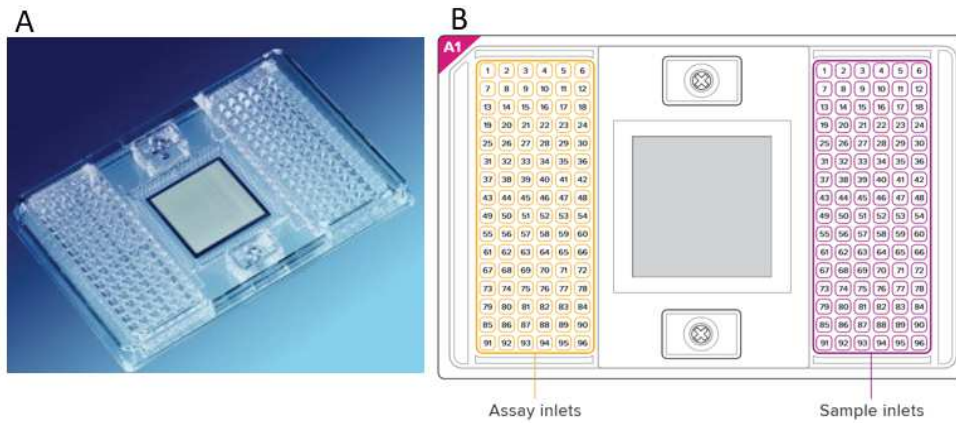


Figure 11 : A) Puce 96×96 allant dans l'automate Biomark Fluidigm. B) Schéma d'une puce 96×96. Du côté jaune sont déposés les réactifs (= amorces et sondes) et du côté rose sont déposés les échantillons. Les réactions de qPCR ont lieu dans les 9 216 chambres réactionnelles microfluidiques au centre de la plaque (réactions individuelles).

Tableau 4 : Familles, genres des 34 espèces virales criblées.

Familles	Genre	Nb d'espèces ciblées	Nb de génotypes ciblés
Bunyaviridae	<i>Bunyavirus</i>	18	34
Flaviviridae	<i>Flavivirus</i>	7	24
Togoviridae	<i>Alphavirus</i>	8	35
Rhabdoviridae	<i>Vesiculovirus</i>	1	1

4.7 : Comportement trophique d'*Ae. albopictus*.

Pour l'analyse des repas de sang, les broyats d'abdomen des femelles collectées gorgées de sang on fait l'objet d'une extraction d'ADN à l'aide du kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Inc., Valencia, USA, cf. détails en annexe 3). En première intention les ADNs extraits ont été utilisés comme matrice pour l'amplification d'une portion du gène ARNr 16S (Boessenkool et al. 2012). Les amplicons obtenus ont été séquencés sur la plateforme de GENEWIZ (France Ltd), puis soumis à une analyse de comparaison de séquences à l'aide de l'outil BLASTn afin de déterminer une correspondance entre l'ADN de l'hôte contenu dans le repas de sang

et des hôtes vertébrés référencés dans les bases de données. Pour les échantillons pour lesquels l'identification n'a pas été possible en première intention avec le marqueur RNAr 16S (défaut d'amplification de la cible, séquences inutilisables), nous avons cherché à amplifier une seconde cible ADN de l'hôte. Ainsi nous avons sélectionné et utilisé une portion du gène codant pour la Cytochrome Oxidase B en utilisant le protocole adapté de Boakye et al 1999.

Afin de vérifier l'amplification des gènes cibles, 10 µl d'amplicons a été chargé sur un gel d'agarose (2%) contenant 2 µl de BET. Des moustiques gorgés de sang de lapin ont été utilisés comme contrôle positif (l'annexe 4 donne le détail des protocoles utilisés pour l'amplification des deux cibles). Les échantillons correctement amplifiés ont été envoyés à GENEWIZ pour un séquençage dans les deux sens (forward and reverse) après purification. Les séquences consensus ont été comparées avec les séquences existantes en utilisant la recherche de Blast nucléotide de NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) pour déterminer l'espèce hôte sur la base des meilleurs scores, total score, query cover, E-value et identity value disponibles.

4.8 : Analyses statistiques.

4.8.1 : Colonisation et dispersion d'*Aedes albopictus*.

Du fait de différences méthodologiques, comme les durées et le nombres de pièges installés dans chaque zone, l'analyse de la colonisation et de la dispersion d'*Ae. albopictus* dans les forêts au Brésil a été restreinte

aux collectes réalisées en 2016 dans trois forêts, à savoir : Adolpho Ducke, Pedra Branca et Morro dos Macacos.

Nous avons analysé : 1) La relation entre la présence (abondance totale par piège sur les 10 jours) des oeufs et la distance entre le point de collecte et la bordure de la forêt (colonisation) et 2) la relation entre la présence de femelles (abondance par piège par jour) d'*Ae. albopictus* et la distance entre le point de collecte et la bordure de la forêt (dispersion). Après une phase d'exploration de données qui consiste à observer les tendances, nous avons utilisé un modèle linéaire généralisé avec une distribution binomiale négative (Zuur et al. 2007). Une variable « offset » a été incluse, correspondant au nombre de pièges utilisés pour chaque distance, afin de pondérer les analyses pour prendre en compte l'effort d'échantillonnage de moustiques adultes. Les analyses statistiques pour la compréhension de la pénétration d'*Ae. albopictus* dans l'environnement forestier ont été réalisées avec le package MASS fonction `Glm.nb` à l'aide de l'outil R studio 3.5.1 dans le logiciel R, version 1.0.14 (Zuur et al. 2007, 2010).

4.8.2 : L'impact de l'invasion d'*Ae. albopictus* sur les communautés natives de culicidés.

Après la préparation d'un tableau d'incidence par unité d'échantillonnage, un par sous-genre et un autre par espèce, les indices de diversité Alpha, Beta et Gamma ont été calculés par localité et distance. L'unité d'échantillonnage a été considérée comme le total des moustiques collectés à chaque distance, par jour, par zone de collecte et par espèce. Pour chaque paramètre de diversité, nous avons calculé le nombre effectif

(Hill Number, $q=1$) par unité d'échantillonnage en respectant deux types de données : sous-genre et espèce. Les principes théoriques pour les calculs de diversité ont été basés sur les réflexions de Jost, 2007 qui se décomposent tel que suit :

- Alpha représente la diversité d'une localité ou communauté.
- Bêta est le changement de la composition d'espèce dans la localité ou communauté.
- Gamma représente la diversité régionale.
- Alpha et Bêta sont une décomposition de la diversité régionale (Gamma diversité) qui varient indépendamment l'une de l'autre pour $q=1$.
- Alpha n'est jamais plus grand que Gamma.
- Hill Number ($q=1$) est équivalent à l'indice de Shannon.

Pour la diversité Alpha, nous avons considéré chaque distance comme une localité, puisque chacune d'entre elle possède des caractéristiques environnementales particulières, principalement du fait des perturbations anthropiques dont l'effet a été considéré ici comme inversement proportionnel à la distance de la bordure. Pour le calcul de la Gamma diversité de chaque fragment forestier (région), nous n'avons pas tenu compte de chaque distance du bord à l'intérieur de la forêt. Ainsi, nous avons obtenu la Gamma diversité du fragment entier et également de tous les fragments considérés ensemble comme la Gamma diversité de bordure des forêt au Brésil. Pour calculer la Bêta diversité de chaque localité nous avons divisé la Gamma diversité de chaque localité par l'Alpha diversité

régionale. L'Alpha diversité régionale est la moyenne du nombre estimateur de Hill Number (HN) $q=1$ trouvé dans chacune des distances pour chaque fragment de forêt.

Le HN $q=1$ de l'Alpha diversité de chaque fragment forestier a été associé dans un modèle de régression linéaire entre l'estimateur du nombre effectif HN $q=1$ et la distance du bord de la forêt. Nous avons également calculé la corrélation de Spearman entre le HN $q=1$ et les données environnementales. L'abondance relative a été calculée comme une relation entre le nombre de spécimens par espèce $\times 100$ / nombre total spécimens. Ce calcul a été reproduit dans un tableau excel, à partir de l'abondance de chaque espèce par piège et par zone de collecte.

Pour bien comprendre la variation de la composition des espèces par distance et fragment forestier, une deuxième approche a été utilisée pour évaluer la Bêta diversité et la contribution d'*Ae. albopictus* à cette diversité, selon Legendre et Caceres, 2013. Ainsi, nous avons estimé la Beta diversité (BD), à partir des calculs de coefficients de dissimilarité. Pour cette analyse, nous avons créé une matrice d'abondance d'espèces par fragment forestier et distance et les résultats sont une estimation comprise entre 0 et 1. La valeur « 0 » correspond à une absence de variation dans la composition d'espèce alors que la valeur « 1 » correspond à un changement complet des espèces composant la communauté de moustiques. BD a ensuite été analysée selon les contributions locales (distance) à la diversité Bêta (LCBD) ou les contributions des espèces à la diversité Bêta (SCBD) (Legendre and Caceres 2013).

Les analyses de diversité Alpha, Bêta et Gamma ont été réalisées avec les packages INEXT pour les analyses selon Jost 2007, alors que les analyses de Bêta diversité ont été réalisées à l'aide des packages TIDYVERSE pour les analyses selon Legendre et Caceres, 2013. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le package MASS fonction lm à l'aide de l'outil R studio 3.5.1 dans le logiciel R, version 1.0.14. Les graphiques ont été réalisés avec les packages Ggplot 2 ou Lattice.

Les données environnementales ont été extraites d'images satellite, téléchargées pour chaque localité sur le site « <https://earthexplorer.usgs.gov> ». Les fichiers de formes shapefile de chaque site d'étude ont été extraits du site « <https://www.ibge.gov.br> ». À partir du point central situé au bord (0 m) de chaque fragment forestier, une zone tampon de 1 km de rayon a été créée afin de réaliser une classification de l'utilisation des terres en : zone de forêt, zone d'activité agricole ou zone urbaine. À partir des images satellite, les indices NDVI minimum et NDVI maximum ont été extraits en utilisant le même grille. Toutes les analyses environnementales ont été effectuées avec Qgis 2.18.14.

Chapitre 5 : Potentialité d'invasion des interfaces ville-forêt par *Aedes albopictus* au Brésil.

5.1 : Contenu du chapitre.

Le chapitre 5 est consacré à une étude destinée à décrire la présence d'*Ae. albopictus* dans les interfaces ville/forêt au Brésil et d'étudier la possibilité d'invasion des écosystèmes forestiers par cette espèce. Dans ce chapitre nous avons considéré 3 aspects clés de l'écologie d'*Ae. albopictus* dans ce type d'environnement : **1) La colonisation et 2) la dispersion** du moustique principalement dans la réserve forestière d'Adolpho Ducke (Manaus), à Pedra Branca (Rio de Janeiro) et à Morro dos Macacos (Goiania), et secondairement dans 7 autres interfaces ville-forêt au Brésil; **3) Le comportement de piqûre** pour estimer le contact avec des animaux sauvages forestiers.

5.2 : Contexte.

Originaire d'Asie, le moustique tigre est arrivé au Brésil dans les années 1980. Il est établi aujourd'hui dans 60% des villes brésiliennes. La présence de cette espèce constitue une menace majeure pour la transmission d'arbovirus épidémiques (Fièvre Jaune, Dengue, Chikungunya, Zika) vers la forêt (spill back). Il représente également une menace pour l'émergence d'arbovirus zoonotiques vers les zones urbaines (spill over) du fait de sa capacité adaptative aux environnements forestiers et du fait de son opportunisme alimentaire.

Les forêts brésiliennes sont considérées comme des hotspots de biodiversité animale, avec la présence de nombreuses espèces de

vertébrés susceptibles d'héberger des centaines d'arbovirus. Ainsi, *Ae. albopictus* pourrait s'immiscer dans la transmission de virus selvatique et jouer un rôle de « bridge » vecteur pour de nombreux arbovirus dans les interfaces entre les environnements urbains et forestiers au Brésil. Ce moustique, qui est de plus en plus signalé dans les villes en bordure de forêt, est déjà décrit comme compétent pour des arbovirus comme RRV, LACV, EEVV, EEEV, POTV, RVFV, YFV, WNV, JEV, JCV, CHPV, MAYV, CHIKV, DENV, ZIKV, TENV (revue par Pereira do Santos, non publié).

Nous avons étudié la colonisation, la dispersion et le panel d'hôtes piqués par *Ae. albopictus* au sein des interfaces ville/forêt dans trois biomes forestiers du Brésil: Amazonia (réserve forestière Adolpho Ducke), Mata Atlantica (réserve forestière Pedra Branca) et Cerrado (fragment forestier de Morro dos Macacos). Après des études détaillées dans ces trois sites, nous avons collecté d'autres données dans 7 sites forestiers additionnels dans les biomes Mata Atlantica et Cerrado.

5.3 : Méthodologie de recherche.

Nous avons étudié la colonisation de cette espèce, en quantifiant l'abondance d'œufs pondus dans des pièges pondoires placés entre la bordure de la forêt et 900 mètres à l'intérieur de la forêt (puis jusqu'à 300m pour les sites additionnels). La dispersion des femelles a été évaluée à l'aide de pièges Bg-Sentinel du bord de la forêt jusqu'à 500m à l'intérieur de la forêt (et jusqu'à 300m pour les sites additionnels). Les femelles collectées gorgées de sang ont été analysées afin de déterminer les hôtes à l'origine du repas de sang.

5.4 : Résultats.

Nous avons observé que la colonisation des pièges pondoires par *Ae. albopictus* diminuait rapidement jusqu'à 300 mètres à l'intérieur des zones forestières. La dispersion d'*Ae. albopictus* dans les forêts diminuait également rapidement avec la distance de la lisière jusqu'à 400 m à Adolpho Ducke et Morro dos Macacos. Cependant, à Pedra Branca l'abondance de femelles augmentait jusqu'à 200 m et diminuait jusqu'à 400 m. La présence d'*Ae. albopictus* dans 7 sites forestiers additionnels a indiqué une tendance générale similaire et donc généralisable aux interfaces ville/forêt du Brésil. Cette tendance semble indiquer un frein à la colonisation de l'environnement forestier par *Ae. albopictus*, au-delà des bordures forestières.

Parmi tous les femelles d'*Ae. albopictus* piégés, 66 étaient gorgées de sang (n = 61 à Manaus, n = 1 à Goiania, et n = 4 à Rio de Janeiro). La plupart d'entre-elles (91%) ont été collectées à la lisière de la forêt et très peu en profondeur (cinq à 100 m à Manaus et une à 200 m à Pedra Branca). Les analyses moléculaires ont montré que la plupart des repas de sang (98%) avaient été pris sur des mammifères, principalement des humains (71%), des chiens (21%), des rats (*Rattus norvegicus*, 3%) et des chauves-souris (*Tonatia bidens*, 3%). Un seul moustique s'était nourri sur oiseau (*Taraba major*, 1,5%). Sur les sept autres sites d'échantillonnage nous n'avons pas collecté des moustiques gorgés (Annexe 5).

En dehors d'*Ae. albopictus*, nous avons collecté 92 autres spécimens de moustiques gorgés. Ces spécimens se répartissent en 9 espèces et 2 sous-genres (*Coquillettidia venezuelensis*, *Culex (Culex) sp*, *Culex carrolia*, *Culex erraticus*, *Culex molis*, *Culex nigripalpus*, *Culex*

pilosus, *Culex quinquefasciatus*, *Limatus durhamii*, *Trichoposopum digitatum*, *Wyeomyia splendida*). Dans la forêt de Manaus, Adolpho Ducke (biome Amazonia), 79 individus gorgés et appartenant à six espèces ont été collectés. Seuls, 8 spécimens gorgés et appartenant à 4 espèces ont été collectés dans la forêt de Rio de Janeiro, Pedra Branca (biome Mata Atlantica). Enfin 4 individus gorgés appartenant à trois espèces ont été capturés à Goiania, Morro dos Macacos. Globalement, certaines espèces ont été collectées plus d'une fois dans chaque zone (Annexe 5). Ainsi, 66% ou 60 des individus gorgés étaient des *Culex molis*, parmi lesquels les hôtes identifiés à partir du repas de sang étaient l'homme (43,3%), le poulet (*Gallus gallus domesticus*, 38,3%), le chien (*Canis lupus familiaris*, 12%), des bovins (*Bos taurus* 1,6%), l'opposum laineux jaune (*Caluromys philander* 1,6%), le jaguar (*Panthera onca*, 1,6%) et des batraciens (*Rhinella schneideri*, 1,6%). La deuxième espèce la plus fréquemment retrouvée gorgée (10 spécimens = 11%) était *Trichoposopum digitatum*, dont 90% des hôtes identifiés étaient de l'homme et 10% des poulets. *Culex quinquefasciatus* représentait 8,5% des espèces gorgées et la plus éclectique de l'étude, avec des repas pris sur le cheval (*Equus caballus*, 40%), le chien (20%), des opossums (*Didelphis virginiana*, 20%) et enfin sur l'homme (20%). *Culex erraticus* était la troisième espèce la plus fréquemment retrouvée gorgée (6,6% des spécimens gorgés) avec des repas pris sur l'homme en majorité (66%), sur *Bos taurus* (17%) et sur oiseau (*Taraba major*, 17%). Pour les sept autres espèces comportant des spécimens gorgés de sang (11% des collections), les détails des analyses

moléculaires permettant de déterminer l'origine des repas de sang des spécimens gorgés sont donnés en Annexe 5.

Parmi les moustiques qui se sont nourris sur les mêmes hôtes vertébrés qu'*Ae. albopictus*, nous avons observé que *Cx. carrollia*, *Cx. erraticus* et *Cx. quinquefasciatus* se nourrissaient d'homme, tout comme *Wy. splendida* et *Trich. digitatum*. *Culex molis*, *Cx. quinquefasciatus*, et *Lim. durhamii* se nourrissaient également sur chien. *Culex erraticus* a également été trouvé gorgé du sang de *Taraba major* (Figure 12). Les interactions (repas de sang) ont lieu principalement à 0 m en bordure de la forêt. Il a été possible d'observer également que l'espèce *Trich. digitatum* était trouvée gorgée principalement à 100m et à 90% avec du sang humain.

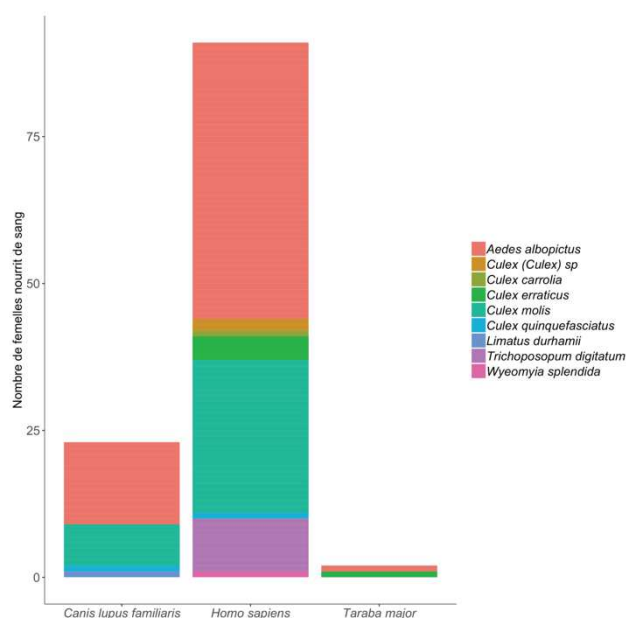


Figure 12 : Abondance des moustiques gorgés qui se sont nourris sur les mêmes espèces de vertébrés qu'*Ae. albopictus*.

5.5 : Conclusion.

La diminution de la présence d'*Ae. albopictus* au-delà de la lisière de la forêt semble refléter la forte dépendance de ce moustique vis-à-vis de l'environnement anthropique. Cependant, cela peut aussi refléter la facilité de disponibilité des ressources biologiques présentes dans cet environnement, telles que: 1) la présence des gîtes de reproduction artificiels, et 2) la plus grande disponibilité des animaux (humain ou non humain) pour la réalisation du repas de sang. Dans la forêt de Pedra Branca, la présence de visiteurs qui se promènent et se baignent dans les cascades peut expliquer l'augmentation de la présence de ce moustique jusqu'à 300 m, une condition qui n'existe pas dans les deux autres forêts exploitées.

Ainsi, à cette distance, les moustiques peuvent utiliser des récipients en plastique laissés par les visiteurs sur leur chemin comme un lieu de reproduction larvaire. Ils peuvent également se nourrir de ces visiteurs à cette distance et pondre dans des gîtes larvaires naturels, comme des trous de rochers. Ces résultats, avec d'autres recherches, confirment que les populations d'*Ae. albopictus* déclinent rapidement à mesure qu'elles pénètrent dans la forêt en Asie ou en Amérique du Sud (Hawley 1988, Lourenço de Oliveira et al. 2003).

Sur les trois sites principaux, 66 *Ae. albopictus* ont été collectés gorgés de sang, les analyses moléculaires confirment le comportement opportuniste dans les interfaces forestières, mais indiquent une très forte propension à piquer l'homme et les mammifères domestiques. Le contact avec la faune sauvage reste limité probablement en raison de la faible disponibilité en hôtes sauvages en comparaison avec celle de l'homme

et/ou ses animaux domestiques dans le compartiment anthropique. Les moustiques se nourrissent de différents types d'animaux domestiques et sauvages. Soulignons les repas de sang communs à *Ae. albopictus*, *Cx. molis*, *Cx. quinquefasciatus*, *Lim. durhamii* qui se sont nourris sur des chiens qui sont des hôtes de la filaire *Dirofilaria immitis* qui peut être accidentellement transmise à l'homme par *Ae. albopictus*, et *Cx. quinquefasciatus*.

Ainsi comme *Ae. albopictus*, *Cx. carrollia*, *Cx. erraticus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. molis*, *Wy. splendida*, *Lim. durhamii* et *Trich. digitatum* sont capables de se nourrir à partir de l'homme qui est un hôte potentiel de différentes arboviroses urbaines comme le DENV, CHIKV, ZIKV et aussi des arbovirus silvestre comme le YFV, MAYV, OROV. Il faut prêter attention aux interactions potentielles entre *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. erraticus* et *Ae. albopictus* et l'homme, car ces espèces sont suspectées de pouvoir intervenir dans la transmission de différents arbovirus. Par exemple, le virus de l'Encéphalite Equine de l'Ouest (WEEV) a été isolé à partir de *Cx. quinquefasciatus*. De plus, cette espèce est compétente pour le virus West Nile (WNV). *Culex erraticus* est un vecteur également compétent pour le virus de l'Encéphalite Equine de l'Est (EEEV), le virus de l'Encéphalite Equine Vénézuélienne (VEEV), ainsi que pour le virus West Nile (Cupp et al. 2004, 2007).

Malgré un contact limité avec la faune sauvage, ces résultats indiquent, qu'il est possible un rôle potentiel d'*Ae. albopictus* comme « bridge » vecteur, notamment pour des virus enzootiques circulant dans les environnements forestiers bordant les villes du Brésil. Ce passage peut

se faire des animaux vers l'homme (spill over), mais aussi de l'homme vers les animaux (spill back).

Ainsi il y est nécessaire de surveiller la présence de cette espèce en bordure de forêt, mais aussi d'étudier davantage ses interactions avec d'autres espèces de vecteurs dans ces environnements.

ARTICLE

Open Access

Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for enzootic pathogens at the urban-forest interface in Brazil

Taissa Pereira dos Santos¹, David Roiz¹, Filipe Vieira Santos de Abreu², Sergio Luiz Bessa Luz³, Marcelo Santalucia⁴, Davy Jiolle¹, Maycon Sebastiao Alberto Santos Neves², Frédéric Simard¹, Ricardo Lourenço-de-Oliveira² and Christophe Paupy¹

Abstract

The invasive species *Aedes albopictus* is present in 60% of Brazilian municipalities, including at the interfaces between urban settings and forests that are zoonotic arbovirus hotspots. We investigated *Ae. albopictus* colonization, adult dispersal and host feeding patterns in the anthropic-natural interface of three forested sites covering three biomes in Brazil in 2016. To evaluate whether an ecological overlap exists between *Ae. albopictus* and sylvatic yellow fever virus (YFV) in forests, we performed similar investigations in seven additional urban-forest interfaces where YFV circulated in 2017. We found *Ae. albopictus* in all forested sites. We detected eggs and adults up to 300 and 500 m into the forest, respectively, demonstrating that *Ae. albopictus* forest colonization and dispersal decrease with distance from the forest edge. Analysis of the host identity in blood-engorged females indicated that they fed mainly on humans and domestic mammals, suggesting rare contact with wildlife at the forest edge. Our results show that *Ae. albopictus* frequency declines as it penetrates into the forest and highlight its potential role as a bridge vector of zoonotic diseases at the edge of the Brazilian forests studied.

Introduction

The risk of the emergence of zoonotic infectious diseases is particularly high in regions under the influence of tropical forests because these important biodiversity hotspots are undergoing anthropogenic land use changes¹. Landscape anthropization, especially urbanization, shifts the risk of mosquito-borne pathogen emergence by affecting the mosquito and host communities both quantitatively and qualitatively^{2,3}. Landscape disturbances at the urban-forest interface may facilitate the dispersion of anthropophilic mosquito species into previously unfavorable habitats⁴, thus modifying vector-host interactions

and potentially leading to more contact with sylvatic (i.e., enzootic) reservoirs of zoonotic pathogens. In this scenario, opportunistic mosquito species can act as bridge vectors between sylvatic and urban pathogen transmission cycles.

During the last 35 years, *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) has expanded geographically from Southeast Asia to other continents, with important human health consequences and risks related particularly to arbovirus transmission^{5–9}. This invasive mosquito species, which was considered sylvatic in its native area, has adapted to human settings (domestication) by exploiting man-made water containers as larval habitats and humans and/or domestic animals as its main blood source¹⁰. Domestication is one of the key features (together with other biological traits, such as desiccation-resistant eggs and overwintering ability) that facilitated the successful expansion of *Ae. albopictus* throughout

Correspondence: Taissa Pereira dos Santos (tayssadnz@gmail.com) or Christophe Paupy (christophe.paupy@ird.fr)

¹MIVEGEC Laboratory, IRD-CNRS-Montpellier Univ., Montpellier 34394, France

²Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ 21040-900, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article.

These authors contributed equally: Taissa Pereira dos Santos, David Roiz

© The Author(s) 2018



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

anthropogenic environments worldwide⁷. Nevertheless, it remains unclear to what extent invasive (and “domesticated”) *Ae. albopictus* populations have preserved their capacity to colonize forest environments. Indeed, *Ae. albopictus* was previously detected at the forest border of rural or urban habitats in colonized areas^{5,11,12}, and its opportunistic blood feeding behavior has been extensively described (i.e., a wide range of vertebrate hosts with a marked preference for mammals, especially humans, compared to birds)^{13–15}. In opportunistic species, the degree of blood feeding on domestic or wild vertebrates relative to humans is strongly dependent on the local host availability¹⁶. Importantly, *Ae. albopictus* can support the transmission of epidemic arboviruses (e.g., chikungunya, dengue, and Zika viruses) and possibly many other enzootic and zoonotic arboviruses^{5,17–19}. In addition, experimental vector competence studies and viral genome detection or isolation in nature indicated that *Ae. albopictus* can transmit several enzootic arboviruses (e.g., La Crosse Virus, West Nile Virus, Eastern equine encephalomyelitis, Cache Valley Virus, Keystone Virus, Potosi Virus, Tensaw Virus, Chandipura, Jamestown Canyon, Orungo, Rift Valley, Ross River, Oropuche virus, Mayaro virus, and yellow fever virus (YFV)^{20–35}). Its vector competence for several pathogens, its opportunistic feeding behavior, and its capacity to colonize urban, rural and natural habitats suggest that *Ae. albopictus* could be a bridge vector to allow pathogen transfers from animal to human compartments and vice versa^{13,36}.

Since its first detection in Brazil in the 1980s, *Ae. albopictus* has geographically expanded to approximately 60% of Brazilian municipalities³⁷, across urban, peri-urban and rural environments^{38–40}, and in some cases at the border of the Atlantic and Amazon forests^{12,41–43}. The Brazilian Amazon forest harbors 187 different arboviruses, among which, 34 are of medical interest^{44,45}. Of particular interest is sylvatic YFV, which causes cyclic epidemic waves with high lethality in Brazil. Following its spatial expansion to the Southeast region in late 2016, the YFV territory now largely overlaps with areas of high *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) and *Ae. albopictus* infestation, and this increases the risk of a reemergence of urban transmission throughout South America^{37,46–48}. However, few studies have focused on *Ae. albopictus* colonization and dispersal in Brazil. Some studies inside forests were carried out as part of the entomological surveillance during yellow fever epizootics, or as part of ecological projects on native mosquitoes^{42,49}. However, systematic investigations are needed to measure *Ae. albopictus* dispersal penetration into neotropical forests to understand its potential as a bridge vector in relation to the emergence risk of zoonotic arboviruses in bordering Brazilian cities and elsewhere. A higher risk occurs

when mammalian diversity is elevated, as it is the case for the Atlantic and Cerrado forests, which are considered hotspots for biodiversity conservation⁵⁰.

Here we studied the capacity of *Ae. albopictus* to colonize and disperse into forested environments from the edge (i.e., modified environment) to deeper locations (i.e., more preserved environment) in three Brazilian biomes, the Amazon, Cerrado and Atlantic forests. We also analyzed mosquito blood meals to determine *Ae. albopictus* host feeding patterns and potential interactions with wild vertebrates.

Results

Ae. albopictus forest colonization

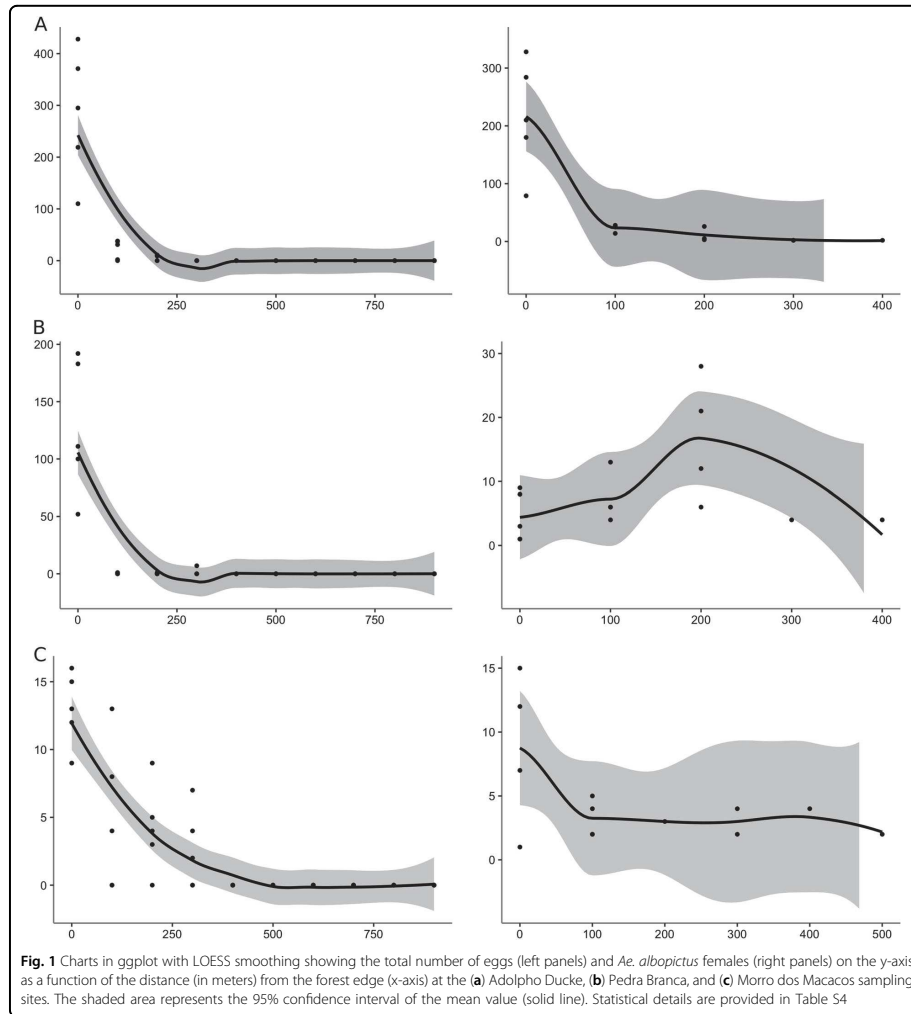
During the 2016 survey, the maximal distance of *Ae. albopictus* egg detection was 300 m from the forest edge, even when sampling was carried out up to 1000 m inside the forest. Specifically, in Adolpho Ducke-Amazonas, the total egg number per distance (five ovitraps per distance) rapidly decreased from 0 to 200 m from the edge (0 m: 1423, 100 m: 118, 200 m: 20 eggs) (Fig. 1). Similarly, at Morro dos Macacos-Goias and Pedra Branca-Rio de Janeiro, eggs were found up to 300 m (0 m: 65, 100 m: 25, 200 m: 21, 300 m: 13 at Morro dos Macacos, and 0 m: 638, 100 m: 2, 200 m: 1, 300 m: 7 at Pedra Branca). Overall, the number of eggs decreased significantly ($p < 0.00001$) with distance from the forest edge in all sampled areas (explained deviance of more than 70%) (Tables S2 and S4).

In the areas surveyed in 2017, mosquito eggs were detected up to the maximal sampling distance (300 m from the forest edge) at four sites: Belo Horizonte-Minas Gerais (0 m: 9, 100 m: 99), Simonésia-Minas Gerais (0 m: 5, 100 m: 55, 200 m: 23, 300 m: 109), Domingos Martins-Espirito Santo (0 m: 26, 100 m: 42, 200 m: 2, 300 m: 17), and Salvador-Bahia (0 m: 236, 100 m: 117, 200 m: 4, 300 m: 64). Although technical problems prevented egg counting in Casimiro de Abreu-Rio de Janeiro and Maricá-Rio de Janeiro, positive ovitraps were detected at all distances (Table S2). Eggs from Serra-Espirito Santo were destroyed during transport.

In Adolpho Ducke and Salvador, all hatched eggs belonged to *Ae. albopictus*. In Pedra Branca, 1.6% of all hatched eggs collected at 0 m corresponded to *Ae. aegypti*, and in Belo Horizonte, 10% of the eggs collected at 100 meters were from *Haemagogus leucocelaenus*. All hatched eggs collected in Maricá, Casimiro de Abreu and those collected at 200 m in Simonésia and at 300 m in Domingos Martins belonged to sylvatic mosquito species (Table S2).

Ae. albopictus forest dispersal

In Adolpho Ducke, BG-Sentinel traps collected 1,232 *Ae. albopictus* adults (768 females and 464 males) with a



mean number of specimens per trap and per day (MN/T/D) of 7 (SD = 8.35). At Morro dos Macacos and Pedra Branca, 63 (59 females and 4 males) and 139 (129 females and 10 males) adult *Ae. albopictus* specimens were collected, respectively (MN/T/D: 1.43 ± 0.81 and 2.07 ± 1.68 , respectively). At these three sites, *Ae. albopictus* adults were sampled from the edge to 500 meters into the forest. At Morro dos Macacos, 49% of all *Ae. albopictus*

specimens were trapped at 0 meter, with two females trapped at 500 m. At Adolpho Ducke, 89% of females were collected at 0 meter, with two females collected at 400 m. At Pedra Branca, 48% of females were sampled at 200 m, with seven specimens collected at 400 m.

Along of the Adolpho Ducke transect, the abundance of *Ae. albopictus* females was significantly ($p < 0.00001$) associated with distance, decreasing from 0 meters up to

400 m, with an explained deviance of 30%. Conversely, in Pedra Branca, *Ae. albopictus* abundance increased up to 200 m, and then decreased up to 400 m. Nevertheless, the distance explained the presence of adults in the forest ($p < 0.00001$; explained deviance of 55.20%). In Morro dos Macacos, the number of *Ae. albopictus* significantly ($p < 0.00001$) decreased with distance and the distance explained the presence of adults in the forest (explained deviance of 48.32%) (Fig. 1 and online Tables S3 and S4 for statistical details).

In 2017, adult *Ae. albopictus* specimens were trapped as far as 300 m (limit of trap deployment) at all sites, with the exception of Casimiro de Abreu and Maricá in the Atlantic forest. The total number of adults caught across the 300 m transects varied from two females in Casimiro de Abreu to 43 females in Salvador. Similarly, only females were trapped in Belo Horizonte ($n = 12$), Domingos Martins ($n = 5$), Maricá ($n = 7$) and Serra ($n = 3$). At Simonésia, 28 specimens were collected (20 females and 8 males) (Table S3).

Ae. albopictus blood meal analysis

Among all the trapped *Ae. albopictus* females, 66 were engorged with blood ($n = 61$ in Adolpho Ducke, $n = 1$ in Morro dos Macacos, and $n = 4$ in Pedra Branca). Most of them (91%) were collected at the forest edge (online Table S5) and very few were collected from deeper in the forest (five at 100 m in Adolpho Ducke; one at 200 m in Pedra Branca). Molecular analyses indicated that most blood meals (98%) were taken from mammals, mainly humans (71%), dogs (21%), brown rats (*Rattus norvegicus*, 3%) and greater round-eared bats (*Tonatia bidens*, 3%) (Fig. 2, online Table S5). Only one mosquito was found to have fed on a bird (great antshrike, *Taraba major*, 1.5%). No engorged *Ae. albopictus* were captured in the seven additional sampling sites.

Discussion

Here, we studied the establishment of *Ae. albopictus* at the edge of and inside Brazilian forests as well as its feeding habits to understand the potential risk of this invading mosquito transferring zoonotic arboviruses to humans. Its abundance, opportunistic trophic behavior and vector competence for several viruses contributes to its potential role in the spill-over of zoonotic pathogens from sylvatic hosts to humans, or to domestic animals and then potentially to humans^{13,15}.

We observed that forest colonization by *Ae. albopictus* rapidly decreased with distance from the edge (200–300 m inside the forest). Together with previous findings, these result confirm that *Ae. albopictus* population density declines as they penetrate into the forest^{10,51}. Although *Ae. albopictus* was captured at all surveyed forests both before and during the YFV outbreak, its

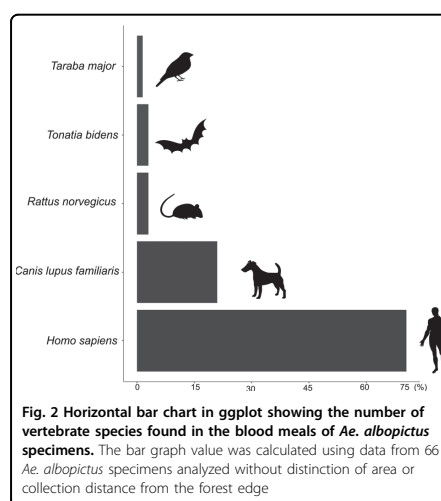
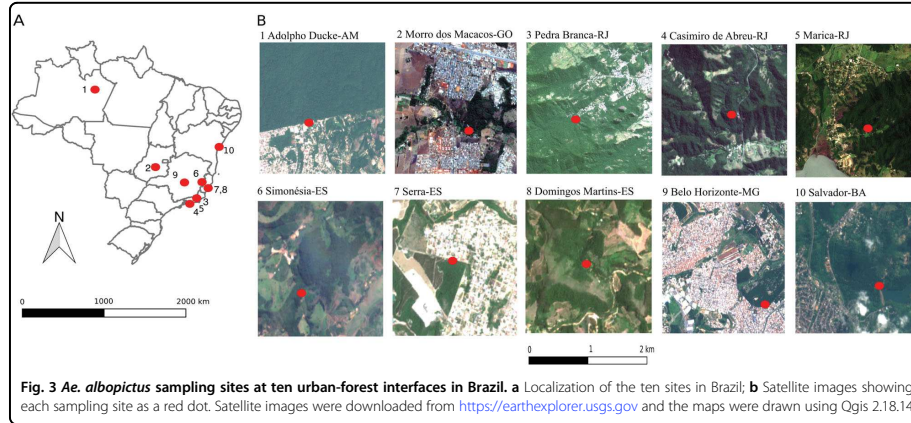


Fig. 2 Horizontal bar chart in ggplot showing the number of vertebrate species found in the blood meals of *Ae. albopictus* specimens. The bar graph value was calculated using data from 66 *Ae. albopictus* specimens analyzed without distinction of area or collection distance from the forest edge

dispersal seems to be somewhat limited because adults were not sampled beyond 500 m from the forest edge. The number of trapped adults usually decreased with the distance from the edge of the forest, with the exception of Pedra Branca, where the abundance of *Ae. albopictus* females increased up to 200 m and then sharply decreased up to 400 m, probably due to the presence of human visitors between 0–200 m at this reserve (personal observation). The presence of humans in these areas could represent a blood source for feeding, as well as a source of breeding/oviposition sites (i.e., plastic containers left behind). *Aedes albopictus* colonization and dispersal occurs deeper into Brazilian secondary forests, as described previously in a one-year study at Represa do Cigano in Rio de Janeiro where the eggs of wild and rubidium chloride-marked females were detected up to 1000 m inside the anthropized area of the Tijuca Forest^{12,41}.

The blood meal identifications showed a clear pattern of mammalian host preference (especially humans), as reported in several previous field studies^{13–15,52}. In addition to humans, blood meals were found to be from domestic or commensal hosts (dogs and brown rats) and, less frequently, from wild hosts (two bats and one bird), confirming the opportunistic feeding behavior of *Ae. albopictus*^{5,13,14}. The greater round-eared bat is an omnivorous species that is usually found in hollow trees at low heights and hunts in clearings (modified environments and forest edges). The great antshrike is a bird that lives in clearings and low density vegetation at the forest edge^{53,54}. These results highlight that *Ae.*



albopictus feeds mostly on humans and domestic animals but also on wildlife at the edge of the forest and suggests host-seeking by flying at low heights. Additional studies should investigate the potential host feeding patterns of *Ae. albopictus* on wildlife living inside forest patches.

Our study and previous data^{12,41} suggest that, in Brazil, *Ae. albopictus* can occupy the few hundred meters beyond the forest edge, but then its density progressively decreases with distance from the edge. This could be explained by a reduction in the availability of its key resources, which are common at the forest edge, such as suitable breeding sites and host abundance. Therefore, the degree of forest fragmentation and anthropization could be a relevant factor that modulates *Ae. albopictus* colonization and dispersal. Alternatively, *Ae. albopictus* populations could be maladapted to sylvatic environments (i.e., the species has lost its ancestral biological trait). The presence of competitors, predators or parasites in the natural larval habitats in neotropical forests could also explain this observation.

Although the forest edge could be considered an 'emergence area' where zoonotic diseases can spill-over from zoonotic reservoirs to humans via *Ae. albopictus*, the present results suggest that the risk of transfer from wildlife is less likely than from domestic commensal hosts. This must be confirmed by additional studies, particularly on the interactions between *Ae. albopictus* and monkeys that are YFV reservoirs. Natural YFV infections in the *Ae. albopictus* specimens captured in the Cerrado biome of Brazil during the 2016–2018 YFV outbreak were recently confirmed⁴⁸, suggesting that such interactions occurred. Moreover, it was previously shown that some Brazilian

Ae. albopictus populations, including those living at the sites surveyed here (Manaus, Goiania and Rio de Janeiro), are competent to support the transmission of several YFV strains^{26,55}. Furthermore, in vivo experiments have demonstrated that YFV can rapidly adapt to this vector species⁵⁶. In this study, *Ae. albopictus* females were trapped up to 300 m in five of the seven surveyed forests where active enzootic YFV transmission was reported in 2017, as well as at the forest edge of all the surveyed forests. Our data suggests an ecological overlap between *Ae. albopictus* and YFV reservoirs. It is crucial that future studies better evaluate the propensity of this mosquito to bite monkeys that live in the canopy, thus helping the transfer of sylvatic YFV to humans and the emergence of a rural/intermediate cycle in Brazil, or the reemergence of the urban cycle.

Taken together, these results highlight the potential role of *Ae. albopictus* as a bridge vector for zoonotic diseases in the human-animal interface at the edge of Brazilian forests. Its potential participation in the spill-over of dozens of zoonotic arboviruses harbored in Brazilian forests from sylvatic or ubiquitous hosts directly to humans, from wildlife to commensal and domestic hosts, and between humans in the ecotone and natural and modified environments, as well as rural areas, deserves to be investigated. For instance, capuchins, marmosets, opossums and other commensal and ubiquitous mammals that live and find shelter in low vegetation and/or on the ground at the forest edge are amplifiers of arboviruses with great epidemic potential (e.g., YFV, Mayaro virus), and their territory overlaps with that of *Ae. albopictus* in Brazil. Understanding the mechanisms of disease emergence will allow for the development of early detection

and control programs to reduce disease incidences and economic burdens.

Materials and methods

Study areas

Surveys were undertaken before (from January to May 2016) and during the 2017–2018 severe YFV outbreak (from February to June 2017). In 2016, mosquitoes were sampled in three urban-forest interfaces located in the cities of Manaus (Adolpho Ducke site, 3°00′12.78″S; 59°55′37.86″W, January 7 to March 3), Goiania (Morro dos Macacos site, 6°40′16.32″S; 49°22′49.93″W, April 17 to May 27), and Rio de Janeiro (Pedra Branca site, 22°56′6.57″S; 43°26′42.19″W, from March 4 to April 16) (Fig. 3 and online Table S1). In 2017, we extended our survey by including seven supplementary urban-forest interfaces located in four Brazilian states where YFV was circulating. In addition to increasing the number of study sites to have a broader and more generalizable view of the *Ae. albopictus* colonization in Brazilian forests, the aim was also to assess the potential ecological overlap between *Ae. albopictus* and sylvatic YFV. The additional sites were Belo Horizonte (19°51′59.29″; 44°0′43.51″, from February 10 to 13), Simonésia (19°55′12.06″; 41°54′20.23″, from February 16 to 18) in the Cerrado biome, Domingos Martins (20°17′12.48″; 40°50′14.35″, from February 21 to 23), Serra (20°6′46.89″; 40°11′12.53″, from March 14 to 17), Casimiro de Abreu (22°26′33.31″; 42°12′30.34″, from March 28 to 31), Maricá (22°55′24.44″; 42°42′27.88″, from May 4 to 8) and Salvador (12°49′50.34″; 38°27′18.77″, from June 6 to 8) in the Atlantic forest (Fig. 3).

Study design

The field entomological survey was undertaken according to an anthropization gradient from the edge to the interior of the forest. At the three long-term surveyed sites (Adolpho Ducke, Morro dos Macacos, and Pedra Branca), the mosquito sampling design was based on a grid of five parallel lines spaced 25 m apart and intersected perpendicularly by a grid of ten parallel lines spaced 100 m apart, extending from the edge (0 meters) to 900 m inside the forest (online Figure S1). Field work was organized into two sampling phases with two different methods to differentiate between *Ae. albopictus* colonization (first sampling phase) and dispersion (second sampling phase). The term “colonization” refers to the capacity to exploit forest environments for suitable oviposition sites. The term “dispersion” was used to measure the abundance of host-seeking female mosquitoes in the forest. The first sampling phase (10 consecutive days) was conducted by deploying 50 ovitraps (one at each intersection between parallel and perpendicular lines) made up of a dark plastic cup with 300 ml of hay infusion and one

wooden paddle for mosquito egg collection⁵⁷. Every 5 days, paddles were replaced and the recovered paddles were transported to the laboratory for egg counting on day 10. In the laboratory, paddles were immersed in water for egg hatching, larval breeding and identification of emerging adults using appropriate morphological taxonomic keys⁵⁸. The second sampling phase (7 consecutive days) was carried out using 15 BG-Sentinel traps (Biogents) baited with a combination of BG-lure and dry ice as source of CO₂ to capture host-seeking adult mosquitoes at different distances up to 500 meters inside the forest. The number of BG-Sentinel traps per distance varied due to operational limitations. Traps operated beginning at 8:00am on day 1 until 5:00pm on day 7 and were monitored every 24 h by replacing the collection bags containing mosquitoes and dry ice. We defined a “sampling cycle” as the 10 days of ovitrap monitoring followed by the 7 days of BG-Sentinel trap monitoring. Two sampling cycles were carried out in Adolpho Ducke and Morro dos Macacos and one was completed in Pedra Branca. The sampling method and approach used in the seven forest interfaces surveyed during the 2017 YFV outbreak were essentially the same, except that 12 BG-Sentinel traps were operated from 0 to 300 m from the edge of the forest for 5 days, considering the preliminary results of the 2016 sampling. Ovitrap traps were installed at the same points as the BG-Sentinel traps for 10 days.

Trophic behavior analysis

Blood-engorged *Ae. albopictus* females collected with the BG-Sentinel traps were used to identify the blood-feeding patterns in forest environments. DNA was extracted from abdomens containing blood and used for PCR amplification according to the protocol by Bitome-Essonon et al.⁵⁹. Specific primers were used to amplify a portion of the 16 S rRNA gene or to amplify a portion of the cytochrome B oxidase gene, if the first PCR test failed. Genomic DNA from a mosquito engorged with rabbit blood was used as positive control. DNase-free water was used as negative control. All PCR-amplified products (10 µl) were run on 2% agarose gels in TBE buffer and positive samples were sent to GENEWIZ for forward and reverse sequencing after purification. Consensus sequences were compared with existing sequences using the nucleotide BLAST database to determine the host species, according to Bitome-Essonon et al.⁵⁹.

Statistical analysis

Data from the Adolpho Ducke, Pedra Branca and Morro dos Macacos forests were used to study (1) the relationship between the presence of eggs and the distance from the edge (colonization), and (2) the relationship between the presence of *Ae. albopictus* females and the distance from the edge (dispersion). After

completing the first exploratory data analysis, a negative binomial generalized linear model was developed. An offset variable was included to weigh for the adult mosquito sampling effort. Statistical analyses were performed using the R studio 3.3.1 tool in the R software, version 1.0.143. Data from the other seven study sites could not be analyzed due to the low number of sampled mosquitoes.

Acknowledgements

We thank Renato Carvalho, Mauro Menezes, Maria Ignez Bersot, Ederval Rocha Ribeiro, Cristiano Gomes Nogueira, Belchior Alves Cirino, Nair Correia Santana, and Nara Gonçalves Costa for their technical support. Financial support was provided by CSF/CNPq, the Investissement d'Avenir grant managed by Agence Nationale de la Recherche (CEBA, ref. ANR-10-LABX-2501), the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under ZIKAlliance Grant Agreement no. 734548 and the Institut Pasteur, Transversal Research Program (ACIP-PTR grant no. 528).

Author details

¹MIVEGEC Laboratory, IRD-CNRS-Montpellier Univ., Montpellier 34394, France. ²Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ 21040-900, Brazil. ³Leonidas and Maria Deane Institute, FIOCRUZ, Manaus, AM 69057-070, Brazil. ⁴State of Goiás Public Health Laboratory Dr. Giovanni Cysneiros, Goiania, GO 74853-120, Brazil

Author contributions

TPDS, DR, FS, RLDO, and CP conceived of the study and designed the methodology. TPDS, FVSDA, and CP carried out the fieldwork and were assisted by RLDO, SLB, and MS. TPDS, FVSDA, and MSASN performed the morphological identification of mosquitoes and TPDS, DJ, and CP were responsible for the molecular identifications. Statistical analyses were performed by TPDS and DR. TPDS, DR, FVSDA, RLDO, and CP wrote the manuscript. All authors edited, commented on the manuscript and accepted the final version.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Supplementary Information accompanies this paper at (<https://doi.org/10.1038/s41426-018-0194-y>).

Received: 20 August 2018 Revised: 31 October 2018 Accepted: 5 November 2018

Published online: 28 November 2018

References

- Allen, T. et al. Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nat. Commun.* **8**, 1–10 (2017).
- Steiger, D. M., Ritchie, S. A. & Laurance, S. G. W. Mosquito communities and disease risk influenced by land use change and seasonality in the Australian tropics. *Parasites Vectors* **9**, 1–13 (2016).
- Rochlin, I., Faraji, A., Ninivaggi, D. V., Barker, C. M. & Kilpatrick, A. M. Anthropogenic impacts on mosquito populations in North America over the past century. *Nat. Commun.* **7**, 1–14 (2016).
- Steiger, D. M. et al. Effects of landscape disturbance on mosquito community composition in tropical Australia. *J. Vector Ecol.* **37**, 69–76 (2012).
- Paupy, C., Delatte, H., Bagny, L., Corbel, V. & Fontenille, D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector. From the darkness to the light. *Microbes Infect.* **11**, 1177–1185 (2009).

- Lambrechts, L., Scott, T. W. & Gubler, D. J. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **4**, e646 (2010).
- Juliano, S. A. & Lounibos, L. P. Ecology of invasive mosquitoes: effect on resident species and human health. *Ecol. Lett.* **8**, 558–574 (2005).
- Hahn, M. B. et al. Reported distribution of *Aedes (Stegomyia) aegypti* and *Aedes (Stegomyia) albopictus* in the United States, 1995–2016 (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* **53**, 1169–1175 (2016).
- Hahn, M. B. et al. Updated reported distribution of *Aedes (Stegomyia) aegypti* and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in the United States, 1995–2016. *J. Med. Entomol.* **54**, 1420–1424 (2017).
- Hawley, W. A. The biology of *Aedes albopictus*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **4**, 2–39 (1988).
- Gomes, A. C. et al. Microhabitats of *Aedes albopictus* (Skuse) in the Paraíba Valley region of the State of S. Paulo, Brazil. *Rev. Saude Publica* **26**, 108–118 (1992). Portuguese.
- Lourenço-de-Oliveira, R., Castro, M. G., Braks, M. A. H. & Lounibos, L. P. The invasion of urban forest by dengue vector in Rio de Janeiro. *J. Vector Ecol.* **29**, 94–100 (2004).
- Delatte, H. et al. Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, a vector of Chikungunya on La Réunion. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* **10**, 249–258 (2010).
- Faraji, A. et al. Comparative host feeding patterns of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, in Urban and Suburban Northeastern USA and implications for disease transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8**, e3037 (2014).
- Kamgang, B. et al. Notes on the blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Cameroon. *Parasites Vectors* **5**, 57 (2012).
- Sivan, A., Shriam, A. N., Sunish, I. P. & Vidhya, P. T. Host-feeding pattern of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in heterogeneous landscapes of South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. *Parasitol. Res.* **114**, 3539–3546 (2015).
- Gratz, N. G. Critical review of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* **18**, 215–227 (2004).
- Grard, N. G. et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)—2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8**, 1–6 (2014).
- Vanlandingham, D. L., Higgs, S. & Huang, Y. J. S. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and mosquito-borne viruses in the United States. *J. Med. Entomol.* **53**, 1024–1028 (2016).
- Westby, K. M., Fritzen, C., Paulsen, D., Poindexter, S. & Moncayo, A. C. La Crosse Encephalitis virus infection in field-collected *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, and *Aedes triseriatus* in Tennessee. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **31**, 233–241 (2015).
- Cupp, E. W. et al. West Nile virus infection in mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. *J. Med. Entomol.* **44**, 117–125 (2007).
- Rezza, G. et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet* **370**, 1840–1846 (2007).
- Weng, M. H., Lien, J. C., Wang, Y. M., Wu, H. L. & Chin, C. Susceptibility of three laboratory strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) to Japanese encephalitis virus from Taiwan. *J. Med. Entomol.* **34**, 745–747 (1997).
- Wispelaere, M., Després, P. & Choumet, V. European *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* are competent vectors for Japanese encephalitis virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **11**, 1–19 (2017).
- Smith, G. C. & Francy, D. B. Laboratory studies of a Brazilian strain of *Aedes albopictus* as a potential vector of Mayaro and Oropouche viruses. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **7**, 89–93 (1991).
- Couto-Lima, D. et al. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. *Sci. Rep.* **7**, 1–12 (2017).
- Johnson, B. et al. Vector competence of Brazilian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* for a Brazilian yellow fever virus isolate. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **96**, 611–613 (2002).
- Farajollahi, A. et al. Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. *J. Med. Entomol.* **46**, 919–925 (2009).
- Mitchell, C. J. et al. Isolation of eastern equine encephalitis virus from *Aedes albopictus* in Florida. *Science* **257**, 526–527 (1992).
- Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Stanwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi viruses from *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected at used-tire sites in Illinois during 1994–1995. *J. Med. Entomol.* **35**, 573–577 (1998).

31. Armstrong, P. M. et al. Isolations of Cache Valley virus from *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in New Jersey and evaluation of its role as a regional arbovirus vector. *J. Med. Entomol.* **50**, 1310–1314 (2013).
32. Gerhardt, R. R. et al. First isolation of La Crosse virus from naturally infected *Aedes albopictus*. *Emerg. Infect. Dis.* **7**, 807–811 (2001).
33. Lambert, A. J. et al. La Crosse Virus in *Aedes albopictus* Mosquitoes, Texas, USA, 2009. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 856–858 (2010).
34. Harrison, B. A. et al. Isolation of potosi virus from *Aedes albopictus* in North Carolina. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **11**, 225–229 (1995).
35. Flahault, A. et al. Chikungunya, La Réunion et Mayotte, 2005–2006: une épidémie sans histoire? *Sante Publique* **19**, 165–195 (2007).
36. Bataille, A. et al. Natural colonization and adaptation of a mosquito species in Galapagos and its implications for disease threats to endemic wildlife. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 10230–10235 (2009).
37. Carvalho, R. G., Lourenço-de-Oliveira, R. & Braga, I. A. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* **109**, 787–796 (2014).
38. Forattini, O. P. et al. Adults *Aedes albopictus* and *Ae. scapularis* behavior (Diptera: Culicidae) in Southeastern Brazil. *Rev. Saude Publica* **34**, 461–467 (2000).
39. Braks, M. A. H., Honório, N., Lourenço-de-Oliveira, R., Juliano, S. & Lounibos, L. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. *J. Med. Entomol.* **40**, 785–794 (2003).
40. Lima-Camara, T., Honório, N. & Lourenço-de-Oliveira, R. Frequency and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saude Publica* **22**, 2079–2084 (2006). Portuguese.
41. Maciel-de-Freitas, R., Neto, R. B., Gonçalves, J. M., Codeço, C. T. & Lourenço-de-Oliveira, R. Movement of dengue vectors between the human modified environment and an urban forest in Rio de Janeiro. *J. Med. Entomol.* **43**, 1112–1120 (2006).
42. Gomes, A. C. et al. *Aedes albopictus* appearance in epizootic areas of jungle Yellow Fever in South-Eastern and Southern regions of Brazil (Diptera: Culicidae). *Epidemiol. Serv. Saude* **17**, 71–76 (2008). Portuguese.
43. Segura Mde, N. et al. Occurrence of *Aedes albopictus* in the state of Pará, Brazil. *Rev. Saude Publica* **37**, 388–389 (2003). Portuguese.
44. Travassos da Rosa A. P., Vasconcelos P. F. C. & Travassos da Rosa J. F. S. (eds) *An Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries* (Instituto Evandro Chagas, Belém, 1998).
45. Vasconcelos, P. F. C. et al. Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. *Cad. Saude Publica* **17**, 155–164 (2001).
46. Bonaldo, M. C. et al. Genome analysis of yellow fever virus of the ongoing outbreak in Brazil reveals polymorphisms. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* **112**, 447–451 (2017).
47. Possas, C. et al. Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunization [Submitted]. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* <https://doi.org/10.1590/0074-02760180278> (2018).
48. Possas, C., Martins, R. M., Lourenço-de-Oliveira, R. & Homma, A. Urgent call for action: Avoiding spread and re-urbanisation of yellow fever in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* **113**, 1–2 (2018).
49. Alencar, J. et al. Flight height preference for oviposition of mosquito (Diptera: Culicidae) vectors of sylvatic yellow fever virus near the hydroelectric reservoir of Simplicio, Minas Gerais, Brazil. *J. Med. Entomol.* **50**, 791–795 (2013).
50. Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B. & Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**, 853–858 (2000).
51. Colless, D. H. Notes on the culicine mosquitoes of Singapore. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **51**, 87–101 (1959).
52. Richards, S. L., Ponnusamy, L., Unnasch, T. R., Hassan, H. K. & Apperson, C. S. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. *J. Med. Entomol.* **43**, 543–551 (2006).
53. Esbérard, C. E. L. & Bergallo, H. G. Biological aspects of *Tonatia bidens* (Spix) in Rio de Janeiro State, southeastern Brazil (Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae). *Rev. Bras. Zool.* **21**, 253–259 (2004). Portuguese.
54. Lara, K. M., Pinho, J. B. & Silveira, R. M. L. Reproductive biology of *Taraba major* (Aves, Thamnophilidae) from the region of Pirizal, Porcoá Norte Do Pantanal, Mato Grosso, Brazil. *Pap. Avulsos Zool.* **52**, 349–359 (2012).
55. Lourenço-de-Oliveira, R., Vazeille, M., Maria, A. N. A., Filippis, B. D. E. & Failloux, A. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **69**, 105–114 (2003).
56. Amraoui, F. et al. Experimental adaptation of the Yellow Fever virus to the mosquito *Aedes albopictus* and potential risk of urban epidemics in Brazil, South America. *Sci. Rep.* **8**, 14337 (2018).
57. Honório, N. et al. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.* **98**, 191–198 (2003).
58. Consoli, R. A. G. B. & Lourenço-de-Oliveira, R. (eds) *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil* (Fiocruz, Rio de Janeiro, 1994).
59. Bitome-Essono, P. Y. et al. Tracking zoonotic pathogens using blood-sucking flies as “flying syringes”. *eLife* **6**, e22069 (2017).

Chapitre 6 : Diversité des culicidés en bordures forestières du Brésil.

6.1 : Contenu du chapitre.

Le chapitre 6 est consacré à l'étude des communautés culicidiennes au sein de bordures forestières au Brésil, et en particulier de leur diversité spécifique. Ainsi la diversité, estimée par les paramètres Alpha, Bêta et Gamma, a été explorée pour les 10 fragments forestiers inclus dans ce travail de thèse. La diversité des communautés a ensuite été analysée à la lumière de paramètres environnementaux tels que l'indice NDVI ou la couverture forestière. Enfin, nous avons recherché un effet potentiel de la présence et de l'abondance d'*Ae. albopictus* sur la diversité des assemblages d'espèces de culicidés, ce qui pourrait, *in fine*, entraîner des modifications des modalités de transmission de certains arbovirus selvatiques.

6.2 : Contexte.

Le Brésil est considéré comme un pays à forte biodiversité animale et végétale, conséquence de la diversité de ses écosystèmes, de son climat, et de son étendue territoriale s'étirant de la zone équatoriale tropicale à la zone semi-tempérée (Guedes 2012). Le territoire est ainsi divisé en six biomes (Amazonia, Mata Atlantica, Cerrado, Caatinga, Pampa et Pantanal) qui regroupent près de 25% (soit 876 espèces) des 3 570 espèces de moustiques répertoriées à travers le monde (www.mosquitocatalog.org).

Par ailleurs, plus de 210 arbovirus ont été répertoriés dans les forêts brésiliennes (dont 196 pour la seule Amazonie), et dont les cycles naturels

(y compris les vecteurs) demeurent inconnus (Casseb et al. 2014). Cependant, les pressions anthropiques de différentes natures, telles que l'exploitation minière, l'agriculture et la déforestation ont conduit à la fragmentation de la forêt entraînant des modifications profondes de la biodiversité, y compris celle des moustiques (França and Marini 2009, Chaves, Stoner, et al. 2011). Une des conséquences de la fragmentation est la formation de bordures forestières, qui constituent des zones de transition entre la forêt originale et l'environnement humain qui peut induire un impact positif ou négatif (connu comme effet de bord) sur certaines communautés biologiques (Laurance et al. 1998, Davies-Colley et al. 2000, Redding et al. 2003). En Amazonie, l'influence de l'effet de bord a été détectée jusqu'à 100 m à l'intérieur des forêt, mais cet effet peut se faire ressentir plus profondément comme cela a été démontré en Australie jusqu'à 200 m (Laurance et al. 1998). Son intensité peut varier en fonction de la taille des fragments forestiers concernés et on estime que plus petite est la taille du fragment, plus grand est l'effet de bordure qu'il subit. Les études portant sur la diversité des moustiques au Brésil prennent rarement en considération la distance avec la zone anthropique, et négligent également souvent l'impact de l'effet de bord sur les communautés des moustiques dans les différents contextes forestiers (Lourenço de Oliveira et al. 2004, Medeiros-Sousa et al. 2015). Par ailleurs, l'impact d'espèces invasives, comme c'est le cas d'*Ae. albopictus*, est rarement considéré dans les interfaces entre les environnements urbains et forestiers (Pereira dos Santos et al. 2018). Pourtant la présence de cette espèce est susceptible de générer des changements du fait d'interactions biologiques avec des

espèces utilisant les mêmes niches écologiques et pouvant générer des phénomènes de compétition capables de moduler les patterns de dominance des espèces de culicidés voire d'entraîner la disparition de certaines espèces natives.

De tels changements peuvent par ricochet, entraîner des modifications des modalités de transmission d'agents infectieux transmis par les moustiques, et même faciliter l'émergence locale d'agents infectieux enzootiques vers l'homme. *Aedes albopictus* possède un potentiel pour agir comme un vecteur « bridge » notamment pour des arbovirus présent en bordure de forêts au Brésil (Pereira dos Santos et al. 2018).

Dans cette partie de la thèse nous avons par conséquent tenté de caractériser les communautés de moustiques au sein de ces bordures sous l'angle de l'abondance relative de chacune des espèces et des indices de d'Alpha, Bêta et Gamma diversité.

Ainsi, ce travail a été mené dans 10 bordures différentes de forêt du Brésil localisées dans les biomes Amazonia, Mata Atlantica et Cerrado. Les niveaux de diversité observés ont été analysés au regard de paramètres environnementaux comme la distances aux zones urbaines, la couverture forestière et l'indice NDVI. En dernier lieu, nous avons étudié comment *Ae. albopictus* pouvait impacter la diversité de la communauté des moustiques au sein de chacun des fragments forestiers investigués.

6.3 : Matériel et Méthode.

Des enquêtes entomologiques ont été menées de janvier à mai 2016 et de février à juin 2017. Ainsi des moustiques ont été échantillonnés dans trois bordures de forêts au Brésil en 2016 au sein des biomes Amazonia à Manaus (MA), Cerrado à Goiania (GO) et Mata Atlantica à Rio de Janeiro (RJ). En 2017, des échantillonnages complémentaires ont été effectués dans sept autres bordures de forêts dans les biomes Mata Atlantica et Cerrado, à Belo Horizonte (BH), Simonésia (SI), Domingos Maritins (DM), Serra(SE), Casimiro de Abreu (CA), Marica (MC), Salvador (SA) (Tableau 3).L'échantillonnage des moustiques a été effectué comme précédemment décrit au chapitre 4 selon des transects partant des bordures forestières vers l'intérieur de la forêt (0 à 500m pour MA, GO et RJ, 0 à 300 m pour les autres sites).

Dans le Chapitre 4, section 4.8.2 nous avons également détaillé les calculs d'analyse de biodiversité, en considérant les principes théoriques pour les calculs de diversité de Jost, 2007, ainsi que Legendre et Caceres, 2013. Ce chapitre détaille également les calculs réalisés pour obtenir l'abondance relative, ainsi que les données environnementales.

6.4 : Résultats.

6.4.1 : Abondance, Abondance relative et composition des espèces de culicidés.

Un total de 15 089 moustiques (répartis en 34 sous-genre et 57 espèces) a été collecté dans l'ensemble des pièges et des sites d'études de 2016 et 2017. Le plus grand nombre de moustiques a été collecté à Manaus, soit 3 704 individus (Tableau 5) correspondant à une moyenne de

4.87 moustiques par piège et par jour (M/P/J). Ces captures étaient pour les autres sites et par ordre décroissant, de 3 477 individus (24.31 M/P/J) à Salvador, de 2 256 spécimens (9.51 M/P/J) à Maricá, de 2 108 (7.19 M/P/J) à Rio de Janeiro, de 1274 (6.37 M/P/J) à Casemiro de Abreu, de 689 (1.75 M/P/J) à Goiania, de 558 (2.73) à Simonésia, de 454 (4.09 M/P/J) à Belo Horizonte, de 429 (4.46 M/P/J) à Serra et de 140 (1.70 M/P/J) à Domingos Martins. Le nombre d'espèces collectées dans chaque zone présente d'importantes variations, et un nombre significatif de spécimens n'a pas pu être identifié et correctement assigné au niveau de l'espèce.

Tableau 5 : Abondance totale par espèce et par zone de collecte BHZ (Belo Horizonte), CA (Casimiro de Abreu), DM (Domingos Martins), GO(Goiania), MA (Manaus), MC (Marica), RJ (Rio de Janeiro), SA (Salvador), SE (Serra), SI (Simonésia).

Genre, Sous-genre ou Espèce	BHZ	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
<i>Aedeomyia (Aedeomyia) squampennis</i>	0	0	0	29	0	0	0	0	0	0
<i>Aedeomyia (Aedeomyia) sp.</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i>	4	0	0	4	1	1	0	0	0	0
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	12	2	5	63	1232	7	139	44	3	28
<i>Aedes (Protomacleaya) argyrothorax</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Aedes (Georgecraigius) fluviatilis</i>	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0
<i>Aedes (Howardina) fulvithorax</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i>	335	378	43	1	0	441	1	6	215	40
<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i>	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0
<i>Aedes</i>	1	0	1	0	0	13	0	13	0	7
<i>Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus</i>	0	0	0	0	0	1228	4	0	1	0
<i>Aedes (Protomacleaya) terrens</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) albicosta</i>	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) hermanoi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) justamansonia</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	15	0
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) nigricans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) shannoni</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) sp.</i>	0	0	0	6	0	0	1	4	60	12
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i>	0	0	0	51	0	0	0	0	0	3
<i>Culex (Culex) declarator</i>	0	0	0	1	0	2	0	0	2	0
<i>Culex (Carrolia)</i>	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0
<i>Culex (Melanoconion)</i>	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0
<i>Culex (Culex) coronator</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Culex (Culex) dolosus</i>	0	0	0	34	0	0	0	0	0	0
<i>Culex (Melanoconion) erraticus</i>	0	0	0	106	621	0	0	0	0	0
<i>Culex (Melanoconion) idottus</i>	0	0	0	60	0	0	0	0	0	0
<i>Culex (Culex) mollis</i>	0	0	0	0	991	0	0	0	0	0
<i>Culex (Culex) nigripalpus</i>	0	0	2	57	14	108	975	0	1	0
<i>Culex (Melanoconion) pilosus</i>	0	0	0	0	182	0	0	0	0	0
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i>	1	0	0	27	5	0	483	0	5	0
<i>Culex (Culex)</i>	4	642	2	108	61	138	10	2969	18	7
<i>Deinocerites (Deinocerites) sp.</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Haemagogus (Haemagogus) janthinomys</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
<i>Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus</i>	14	15	2	1	3	225	13	0	0	37
<i>Limatus (Limatus) durhamii</i>	11	42	39	79	236	50	16	35	0	104
<i>Limatus (Limatus)</i>	0	47	2	0	30	2	10	238	0	7
<i>Lutzia (Lutzia)</i>	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mansonia (Mansonia) indubitans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	78	0
<i>Mansonia (Mansonia)</i>	0	1	0	2	0	0	0	0	8	0
<i>Mansonia (Mansonia) titilans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0
<i>Aedes (Ochlerotatus) condolences</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Aedes (Ochlerotatus)</i>	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0
<i>Orthopodomyia (Orthopodomyia) fascipes</i>	0	0	0	2	7	0	0	0	0	0
<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i>	0	0	0	0	127	0	0	0	0	0
<i>Psorophora (Janthinosoma) ferox</i>	5	0	1	0	0	0	0	0	0	8
<i>Psorophora (Janthinosoma) lutzi</i>	0	0	2	0	24	0	0	0	0	0

Tableau 5 : (Suite).

Genre, Sous-genre ou Espèce	BHZ	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
<i>Psorophora (Janthinosoma)</i>	3	1	5	2	6	0	5	2	1	2
<i>Runchomyia (Runchomyia) frontosa</i>	0	3	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>Runchomyia (Runchomyia) humboldti</i>	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0
<i>Runchomyia (Runchomyia)</i>	0	4	1	0	0	6	9	0	0	5
<i>Sabethes (Peytonulus) identicus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sabethes (Davismyia)</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sabethes (Davismyia) petrocchiai</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	61
<i>Sabethes (Sabethes)</i>	6	7	1	8	0	0	3	1	0	28
<i>Sabethes (Sabethinus)</i>	0	0	0	16	0	0	0	8	0	0
<i>Sabethes (Sabethoide)</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Sabethes (Sabethes) albiprivus</i>	50	1	0	0	0	0	0	0	0	147
<i>Sabethes (Sabethes) belisarioi</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Sabethes (Sabethoide) chloropterus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
<i>Sabethes (Sabethinus) intermedius</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Sabethes (Sabethes) quasicyaneus</i>	0	0	0	1	13	0	0	0	0	1
<i>Sabethes (Peytonulus) whitmani</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) compressum</i>	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) digitatum</i>	0	1	0	0	121	1	0	0	0	0
<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon)</i>	0	11	0	0	0	2	1	0	0	2
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) calosomata</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Wyeomyia (Miamiya)</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Wyeomyia (Phoniomyia)</i>	0	36	0	0	0	2	75	0	0	0
<i>Wyeomyia (Triamyia) aporonoma</i>	0	3	0	0	7	0	1	0	0	2
<i>Wyeomyia (Prosopelepis) confusa</i>	0	32	14	0	0	9	2	0	0	3
<i>Wyeomyia (Spilonympha) forcipenis</i>	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0
<i>Wyeomyia (Wyeomyia) medialbipes</i>	7	1	0	0	0	0	0	2	0	4
<i>Wyeomyia (Dendromyia) melanocephala</i>	0	0	0	0	1	0	0	40	0	1
<i>Wyeomyia (Spilonympha) mystes</i>	0	0	3	0	0	5	0	0	0	4
<i>Wyeomyia (Wyeomyia)</i>	0	22	7	12	4	4	2	115	0	34
<i>Wyeomyia (Phoniomyia) splendida</i>	0	0	0	0	0	0	323	0	0	0
Total	454	1274	140	689	3704	2256	2108	3477	429	558

En bordure de forêt, la composition des espèces a changé en fonction des zones de collectes. En général, l'abondance relative a été dominée par des espèces natives, mais on peut observer aussi la présence de l'espèce invasive *Ae. albopictus* dans tous les fragments forestiers à différentes distances de la bordure de la forêt de 0 à 500m. *Aedes aegypti*, une autre espèce invasive, a été retrouvée dans 4 zones (Belo Horizonte, Manaus, Goiania et Marica) mais avec une très faible abondance relative.

A Manaus nous avons pu observer que plus nous nous éloignons du bord de la forêt plus la prévalence des espèces natives augmentait. A 0 m *Ae. albopictus* était dominante sur les autres espèces, et représentait

50% de l'abondance relative, pour diminuer progressivement et ne plus exister à 400m, au contraire de l'abondance relative de *Sabethes quasicyaneus* qui augmentait avec l'éloignement de la bordure. À Goiania, la présence d'*Ae. albopictus* diminuait avec la distance. Dans ce fragment, on note aussi la capture d'espèces indigènes comme *Coquillettidia venezuelensis* et *Aedeomyia squamipennis*, ainsi que le genre *Sabethes* présent au long de ce fragment forestier et représenté par les espèces *Sabethes belisarioi*, *Sab. intermedius*, *Sab. quasicyaneus* ou *Sab. whitmani*.

Dans le fragment forestier de Rio de Janeiro, une distribution plus homogène des espèces invasives et natives a été observée, ainsi qu'une tendance d'*Ae. albopictus* à augmenter jusqu'à 200m et diminuer à partir de cette distance. *Aedes aegypti* n'a pas été détecté dans le piège Bg-sentinels, mais l'espèce *Wyeomyia splendida* a été abondamment capturée. *Haemagogus leucocelaenus* a été rencontré mais en faible densité.

A Casimiro de Abreu, l'abondance relative d'*Ae. albopictus* était faible et restreinte à 0 m. Tout au long de ce fragment, le genre *Sabethes* a été capturé et son abondance relative était plus élevée à 300m. La composition d'espèces a été dominée par des espèces natives du genre *Aedese*, comme pour les fragments forestiers étudiés à Belo Horizonte, Marica et Serra. Pour les deux derniers, *Ae. albopictus* a été retrouvé plus en profondeur par rapport à la bordure et à Marica une importante abondance relative de l'espèce *Haemagogus leucocelaenus* a été observée.

Pour Belo Horizonte, l'abondance des espèces invasives *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* a augmenté à partir de la bordure de la forêt et l'espèce *Ae. scapularis* a été détectée à toutes les distances de ce fragment (Tableau 5). A Simonésia, l'abondance relative d'*Ae. albopictus* a été plus importante à l'intérieur de la forêt, mais tout au long du fragment forestier, les espèces *Sabethes albiprivus* et *Haemagogus leucoceleunos* ont été plus abondantes.

A Domingos Martins, *Ae. albopictus* était présent du bord (0m) à l'intérieur (300m) de ce fragment forestier. Les espèces dominantes ont été des espèces natives, principalement du genre *Aedes*. Enfin et concernant le fragment forestier de Salvador nous avons observé une abondance relative d'*Ae. albopictus* faible, tout au long du tracé de collectes. Sur la Figure 13, il est possible d'observer l'abondance des espèces invasives *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* par rapport aux espèces selvatiques natives comme les genres *Haemagogus* ou *Sabethes* dans chaque fragment forestier.

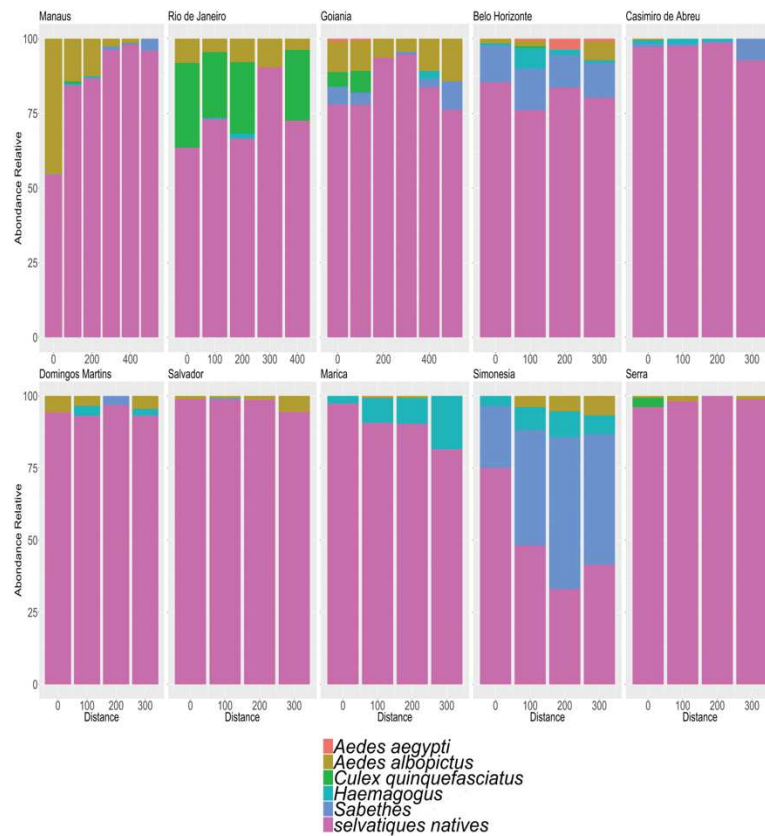


Figure 13 : Abondance relative des espèces anthropiques *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *Cx. quinquefasciatus* et des espèces selvatiques natives et du genre *Haemagogus* et *Sabethes*) par zone de collecte et distance à la bordure.

6.4.2 : Analyse de diversité Alpha, Bêta et Gamma.

Les analyses de **diversité Alpha** utilisant comme paramètre le sous-genre, montrent que les indices de diversité augmentent de manière significative avec la distance (Tableau 6), pour Hill Number ($q=1$, $p\text{-value}=0.0482$ *) (Figure 14). Les analyses d'Alpha diversité en utilisant comme paramètre l'espèce n'ont révélé aucune tendance significative ($p\text{-value}=0.625$), même si avec la distance, l'Alpha diversité a tendance à augmenter (Tableau 6).

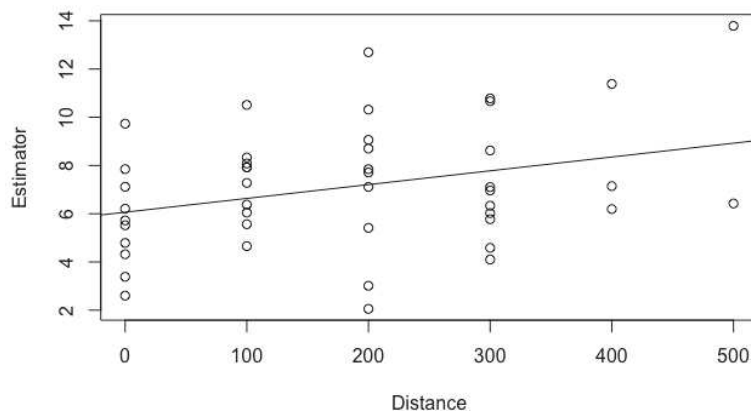


Figure 14 : Plot du modèle linéaire pour l'Alpha diversité estimée au niveau du sous-genre avec Hill number $q=1$.

Tableau 6 : modèle de régression linéaire des indices de diversité en fonction de la distance. Dep: variable dépendante; Ind: variable indépendante, *significative, *** très significative.

Dep. variable	Ind. variable	Estimation	Erreur standard.	t value	p-value
Alpha diversité (sous-genre)					
Estimateur	Intercept	8.349788	0.87319	9.562	3.3e-12 ***
Hill Number $q=1$	Distance	0.00772	0.003797	2.033	0.0482 *
Alpha diversité (Espèces)					
Estimateur	Intercept	6.86627	0.669686	10.253	4.02e-13 ***
Hill Number $q=1$	Distance	0.001435	0.002912	0.493	0.625

La **Gamma diversité** pour le sous-genre a montré d'importantes variations en fonction des différents sites de collectes. Pour Hill numbers $q=1$, les zones de collectes ont présenté des valeurs suivantes par ordre croissant: SA (4.861) < SE (4.961) < BH (7.643) < RJ (7.767) < MA (8.395) < GO (9.158) < DM (10.743) < MC (10.823) < CA (10.824) < SI (13.942). Ainsi, la diversité régionale du fragment forestier de Simonésia au niveau sous-genre est 2,8 fois plus forte que celle du fragment forestier à Salvador.

La Gamma diversité au niveau sous-genre du Brésil a été de 17.06. La Gamma diversité par espèce a aussi varié entre les différents sites de collecte. Nous avons observé que le Hill number $q=1$ a augmenté de la façon suivante : SA (4.337) < RJ (6.423) < BH (9.431) < CA (9.913) < MA (10.442) < SE (11.534) < GO (11.761) < MC (12.055) < DM (12.688) < SI (15.526), au niveau du Brésil l'estimateur a été de 23.67. Les détails de la diversité gamma sont décrits dans le tableau 7.

Tableau 7 : Détails de la diversité Gamma par estimée aux niveaux sous-genres ou espèces pour le nombre effectif (Hill Number $q=1$). Locality : fragment forestier ; Observ. : diversité observée ; Estim. : diversité estimée ; s.e : erreur standard avec intervalle de confiance à 95%, avec limite inférieure (LCL) et supérieure (UCL).

Hillnumber $q=1$	Localité	Observ.	Estim.	s.e	LCL	UCL
Sous-genre	Salvador	4.351	4.861	0.803	4.351	6.434
	Serra	4.619	4.961	0.468	4.619	5.877
	BHZ	7.132	7.643	0.703	7.132	9.021
	Rio de Janeiro	7.267	7.767	0.626	7.267	8.994
	Manaus	8.273	8.395	0.291	8.273	8.965
	Goiania	8.858	9.158	0.418	8.858	9.978
	Domingos Martins	9.217	10.743	1.213	9.217	13.12
	Casemiro de Abreu	10.003	10.824	0.838	10.003	12.467
	Marica	10.361	10.823	0.598	10.361	11.996
	Simonesia	12.552	13.942	1.352	12.552	16.592
Espèce	Salvador	3.917	4.337	0.695	3.917	5.699
	Rio de Janeiro	5.736	6.423	0.717	5.736	7.83
	BHZ	8.655	9.431	0.825	8.655	11.048
	Casemiro de Abreu	8.717	9.913	1.234	8.717	12.332
	Manaus	10.249	10.442	0.381	10.249	11.189
	Serra	8.03	11.534	3.059	8.03	17.53
	Goiania	10.862	11.761	0.818	10.862	13.364
	Marica	11.036	12.055	1.044	11.036	14.101
	Domingos Martins	10.618	12.688	1.661	10.618	15.943
	Simonesia	13.794	15.526	1.425	13.794	18.319

Les calculs de la **Bêta diversité** permettent d'observer la différence des compositions en espèces entre chaque fragment forestier. Quand la diversité Bêta est élevée, il y a une modification de communauté de moustique. Ainsi dans les bordures des forêts les différentes communautés ont varié de une à trois, comme décrit dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Les détails de la diversité Gamma, Alpha régionale et Bêta par espèces ou sous-genres, et zone de collecte, selon Jost 2007.

Classification	Localité	Gamma diversité	Alpha régionale	Bêta diversité
Sous-genre	Salvador	4.861	3.178357	1.529406546
	Serra	4.961	3.823418	1.297530116
	BHZ	7.643	5.58335	1.368891436
	Rio de Janeiro	7.767	5.663599	1.371389465
	Manaus	8.395	6.892794	1.217938618
	Goiania	9.158	9.152946	1.000552172
	Domingos Martins	10.743	8.588053	1.250923812
	Marica	10.823	7.840089	1.380469023
	Casemiro de Abreu	10.824	7.973975	1.357415843
	Simonesia	13.942	9.044657	1.541462545
Total	Brésil	17.06	6.413396	2.660057168
Espèce	Salvador	4.337	2.584863	1.677845209
	Rio de Janeiro	6.423	3.935271	1.632162054
	BHZ	9.431	6.341348	1.487223221
	Casemiro de Abreu	9.913	6.162513	1.608597012
	Manaus	10.442	8.55646	1.220364497
	Serra	11.534	5.317239	2.16917088
	Goiania	11.761	8.763804	1.341997151
	Marica	12.055	7.764746	1.552529857
	Domingos Martins	12.688	9.478856	1.338558155
	Simonesia	15.526	9.323835	1.665194633
Total	Brésil	23.665	6.362829	3.719257582

L'analyse de l'environnement, en associant les Hill Numbers $q=1$ avec le NDVI minimal, maximal, la couverture forestière, les zones urbaines et les zones agricoles n'a révélé aucune relation significative entre ces paramètres environnementaux et l'Alpha, Bêta, ou la Gamma diversité, en considérant la classification par espèce ou par sous-genre.

6.4.4 Analyses de Bêta Diversité.

Pour mieux comprendre les variations de la composition des espèces dans chaque fragment forestier, nous avons analysé la Bêta diversité (BD) ainsi que la contribution de chaque distance à la diversité Bêta (LCBD) et la contribution de chaque espèce à la diversité Bêta (SCBD) avec la deuxième approche basée sur les travaux de Legendre et Carceres, 2013.

Avec cette approche la diversité Bêta, c'est à dire la variation de la composition des espèces de chaque fragment, a été en ordre décroissant : SA 0.3307046 > MA 0.2646026 > SE 0.2351738 > GO 0.2077697 > SI 0.1851527 > DM 0.1635476 > CA 0.12731 > RJ 0.09310431 > BH 0.05885836 > MC 0.05456071.

Avec cette approche, il a été possible de définir que chaque distance dans le fragment forestier a contribué à la variation de la composition des espèces dans chaque fragment forestier. Ainsi nous avons observé que le LCBD à Rio de Janeiro à 0 m (0.1503) et 200 m (0.3726) ont contribué de façon plus équilibrée à la variation de la diversité Bêta, mais la distance qui contribue le plus à cette variation a été à 300 m (0.5805). A Manaus au contraire, la distance de 0 m a le plus contribué à cette variation de la composition des espèces. Celles-ci ont le plus changé à 0m. Une haute

contribution de 0m à LCDB a été observée à Marica (0.4487), Serra (0.5756), Simonésia (0.4854), Goiania (0.2785) et Casimiro de Abreu (0.6367).

Nous avons aussi constaté que chaque distance dans chaque fragment forestier, a contribué plus ou moins à la variation de la communauté de moustiques (Tableau 9).

Tableau 9 : Résultats de LCBD par fragment forestier à la Bêta diversité.

Distance	BH	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
0	0.2400	0.6367	0.2393	0.2785	0.4595	0.4487	0.1503	0.1307	0.5756	0.4854
100	0.2068	0.0885	0.1326	0.2069	0.0459	0.1241	0.0598	0.3719	0.2283	0.1087
200	0.3297	0.1181	0.4072	0.0884	0.0717	0.1466	0.1500	0.3726	0.1398	0.1872
300	0.2235	0.1567	0.2210	0.0958	0.1043	0.2806	0.5805	0.1248	0.0563	0.2187
400	NA	NA	NA	0.1553	0.1222	NA	0.0593	NA	NA	NA
500	NA	NA	NA	0.1751	0.1964	NA	NA	NA	NA	NA

Dans le tableau 10, nous pouvons constater la p-value de chaque distance à la BD, ainsi à 0 m la contribution a été significative à la variation de la diversité à CA (0.001), GO (0.007), MA (0.002), MC (0.032), SE (0.012), SI (0.004). Dans les autres fragments, ces distances ont contribué de façon plus homogène. Il faut noter, la contribution à BD de la distance de 200 et 300m à Domingos Martins (0.002) et Rio de Janeiro (0.002).

Tableau 10 : p-value de la contribution de chaque distance par fragment forestier à la Bêta diversité.

Distance	BH	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
0	0.493	0.001	0.595	0.007	0.002	0.032	0.456	0.843	0.012	0.004
100	0.613	0.987	0.995	0.182	0.994	0.874	0.809	0.157	0.553	0.952
200	0.23	0.929	0.002	0.993	0.924	0.804	0.418	0.17	0.736	0.749
300	0.541	0.769	0.685	0.975	0.723	0.382	0.022	0.834	0.994	0.62
400	NA	NA	NA	0.565	0.609	NA	0.83	NA	NA	NA
500	NA	NA	NA	0.382	0.311	NA	NA	NA	NA	NA

6.4.5 : Impact de la présence d'*Aedes albopictus* sur la diversité Bêta.

Aedes albopictus a été la seule espèce présente dans tous les fragments forestiers étudiés. En ce qui concerne la contribution de chaque espèce à la diversité Beta, nous avons observé que ce moustique a plus contribué à la variation de la composition des espèces (la Bêta diversité) à MA 0.223> BH 0.183> SA 0.181> SI 0.092> DM 0.083> 0.064 RJ> CA 0.054> MC 0.042> SE 0.018> GO 0.017.

Entre autres espèces présentes dans les différentes bordures des fragment forestiers, on trouve : *Haemagogus leucocelenus* qui a contribué à la Bêta diversité à MC et BH et *Sabethes albiprivus* à BH et Casimiro de Abreu.

Tableau 11 : Résultats de SCBD par bordure des fragments forestiers.

Espèce	BH	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
<i>Aedeomyia squampennis</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.1833	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes aegypti</i>	0.1057	0.0000	0.0000	0.0128	0.0000	0.0102	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes albopictus</i>	0.1830	0.0545	0.0833	0.0170	0.2231	0.0423	0.0642	0.1817	0.0185	0.0926
<i>Aedes argyrorhox</i>	0.0000	0.0000	0.0566	0.0000	0.0000	0.0082	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes fluviatilis</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0008	0.0000	0.0041	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes fulvithorax</i>	0.0390	0.0191	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes scapularis</i>	0.0220	0.2689	0.0314	0.0061	0.0000	0.1308	0.0041	0.0377	0.1951	0.1321
<i>Aedes serratus</i>	0.0000	0.0000	0.2083	0.0032	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0622	0.0000	0.0000	0.0138	0.0000
<i>Aedes terrens</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0041	0.0000	0.0000	0.0374
<i>Coquillettidia albicosta</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0164	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0270
<i>Coquillettidia hermanoi</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0105	0.0000
<i>Coquillettidia justamansonia</i>	0.0000	0.0000	0.0566	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0082	0.0000
<i>Coquillettidia nigricans</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0632	0.0000
<i>Coquillettidia shannoni</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0259	0.0000
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0271	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0219
<i>Culex declarator</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0032	0.0000	0.0164	0.0000	0.0000	0.0254	0.0000
<i>Culex coronator</i>	0.0287	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0041	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex dolosus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0195	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex erraticus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0930	0.1863	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex idottus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.2166	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex mollis</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.2146	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex nigripalpus</i>	0.0000	0.0000	0.0718	0.1578	0.0180	0.1234	0.0767	0.0000	0.0259	0.0000
<i>Culex pilosus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1254	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0.0287	0.0000	0.0000	0.0983	0.0048	0.0000	0.6479	0.0000	0.0432	0.0000
<i>Haemagogus janthinomys</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0117	0.0000	0.0000	0.0000	0.0168

Tableau 11 : (Suite)

Espèce	BH	CA	DM	GO	MA	MC	RJ	SA	SE	SI
<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	0.1246	0.1112	0.0666	0.0297	0.0038	0.2394	0.0491	0.0000	0.0000	0.0131
<i>Limatus durhamii</i>	0.2195	0.2395	0.0138	0.0467	0.0175	0.2431	0.1134	0.3342	0.0000	0.2698
<i>Mansonia indubitans</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.4492	0.0000
<i>Mansonia titilans</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1210	0.0000
<i>Ochlerotatus condolences</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0010	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Orthopodomyia fascipes</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0594	0.0047	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Psorophora albipes</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1313	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Psorophora ferox</i>	0.1092	0.0000	0.0566	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0522
<i>Psorophora lutzi</i>	0.0000	0.0000	0.0666	0.0000	0.0137	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Runchomyia frontosa</i>	0.0000	0.0493	0.0000	0.0000	0.0000	0.0120	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Runchomyia humboldti</i>	0.0000	0.0000	0.0402	0.0000	0.0000	0.0174	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Sabethes identicus</i>	0.0000	0.0273	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Sabethes petrocchiaie</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1534
<i>Sabethes albiprivus</i>	0.0069	0.0273	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0396
<i>Sabethes belisarioi</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0032	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Sabethes chloropterus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0082	0.0000	0.0000	0.0000	0.0168
<i>Sabethes intermedius</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0032	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Sabethes quasicyaneus</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0032	0.0136	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0139
<i>Sabethes whitmani</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0112
<i>Trichoprosopon compressum</i>	0.0000	0.1087	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Trichoprosopon digitatum</i>	0.0000	0.0273	0.0000	0.0000	0.0274	0.0078	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Uranotaenia calosomata</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0043	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Wyeomyia aporonoma</i>	0.0000	0.0187	0.0000	0.0000	0.0087	0.0000	0.0041	0.0000	0.0000	0.0223
<i>Wyeomyia confusa</i>	0.0000	0.0369	0.0781	0.0000	0.0000	0.0121	0.0082	0.0000	0.0000	0.0193
<i>Wyeomyia forcipenis</i>	0.0000	0.0000	0.0610	0.0000	0.0000	0.0279	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<i>Wyeomyia medialbipes</i>	0.1327	0.0113	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0261	0.0000	0.0242
<i>Wyeomyia melanocephala</i>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0010	0.0000	0.0000	0.4204	0.0000	0.0073
<i>Wyeomyia mystes</i>	0.0000	0.0000	0.1091	0.0000	0.0000	0.0268	0.0000	0.0000	0.0000	0.0292

6.5 : Conclusion.

Dans ce chapitre nous avons observé que sur l'ensemble des fragments forestiers étudiés, nous avons rencontré 57 espèces de moustiques distribués en 34 sous-genres. Nous avons également observé que pour chaque bordure de fragment forestier étudiée, l'abondance relative des espèces changeait en fonction de la distance au bord et de la

composition des espèces, notamment l'abondance relative d'*Ae. albopictus*.

Ce résultat suggère l'hétérogénéité spatiale des populations de moustiques pour chaque fragment forestier qui représente un environnement avec des caractéristiques propres (notamment le degré d'anthropisation). En ce qui concerne *Ae. albopictus*, les autres facteurs pouvant influencer cette hétérogénéité spatiale sont les différents temps de colonisation dans ces différents environnements. Cette espèce a été précédemment décrite dans la communauté de moustiques de différents fragments forestiers du Brésil, mais dans ces études la mesure de la distance à l'interface environnement humain/forêt, n'a pas été prise en compte (Medeiros-Sousa et al. 2015, Alencar et al. 2016, Silva et al. 2017).

Dans la présente étude nous avons pris en compte cette interface et les distances jusqu'à l'intérieur de la forêt. Le paramètre distance à ces interfaces humain/forêt sont très importants, car les bordures des forêts ont des degrés variables de fragmentation qui peuvent affecter la diversité des communautés des moustiques et les cycles selvatiques des différents pathogènes. En plus, ces bordures de forêts gardent une proximité avec l'homme qui peut être infecté par contact accidentel avec des moustiques vecteurs et par conséquent entraîner une émergence virale causée par l'interaction avec des cycles enzootique forestiers.

Nous savons que la diversité de la communauté des moustiques, les degrés de dominance entre les espèces et le paysage sont des paramètres clés pour comprendre la transmission de la maladie par les moustiques (Brown et al. 2008, Reisen 2010, Chaves et al. 2011).

Il ne nous a pas été possible de mesurer le degré de fragmentation propre de chacune des bordures étudiées. Par contre, nous avons pu observer un changement de la biodiversité, à partir de l'interface ville/forêt à 0m, jusqu'à 300 et 500 à l'intérieur des forêts.

En général, nous avons observé que la diversité Alpha est modulée par la distance, elle augmente quand on pénètre en forêt, ainsi, plus on pénètre à l'intérieur de la forêt, plus grande est la diversité des moustiques. Nous avons également observé que dans ces différentes bordures, chaque distance contribue de façon différente au changement de la composition des espèces (Beta diversité).

En général, nous avons pu constater que la bordure immédiate (0m) est la « localité » qui contribue le plus au changement de la composition de l'espèce. Ce résultat est cohérent car cette distance marque la zone de transition entre deux paysages urbain/forêt (l'écotone). Nous avons observé aussi une faible Gamma diversité des espèces de bordures de forêts qui était estimée entre 4.33 et 15.52 et que cette estimation atteignait 23.66 pour l'ensemble du Brésil (tous les sites considérés ensemble).

Concernant l'impact d'*Ae. albopictus* dans ces fragments forestiers, nous avons observé que ce moustique est le plus contributif à la variation de la composition en espèces. Même si nous avons pu observer l'impact d'*Ae. albopictus* sur la Bêta diversité, il faut que nous prenions en compte d'autres méthodologies pour mieux évaluer l'impact sur la communauté des moustiques, ainsi que pour l'Alpha et Gamma diversités.

Par contre, il faut mettre en évidence que les méthodologies développées par Jost, 2007 et Legendre et Carceres, 2013, nous ont permis

d'évaluer de façon plus précise les mesures des diversités. Car d'un côté Jost, 2007 avec les Hill Number nous permet d'évaluer les nombres effectifs des espèces pour Alpha et Gamma diversités, et d'un autre côté la méthodologie de Legendre et Carceres, 2013 nous permet d'évaluer l'impact des espèces et des distances sur la Beta diversité.

Pour comparer nos résultats avec les études actuellement disponibles, il faut que nous fassions des analyses prenant en compte des indices plus utilisés comme l'indice de Shannon et de Simpson. Ces comparaisons sont en cours et n'apparaissent pas dans cette thèse du fait du temps limité pour sa finalisation. Ces résultats seront présentés ultérieurement sous forme d'article scientifique.

Chapitre 7 : Analyse des infections naturelles par des arbovirus.

7.1 : Contenu du chapitre.

Ce chapitre est consacré à la recherche d'infections arbovirales chez les moustiques capturés dans les différentes bordures forestières que nous avons investiguées au Brésil. Pour ce faire, nous avons utilisé une méthode de criblage à haut-débit, capable de détecter plus de 34 arbovirus distincts.

7.2 : Contexte.

Les forêts brésiliennes sont considérées comme des « hotspots » de biodiversité de vertébrés et abritent presque la moitié des arbovirus catalogués dans le monde (<https://wwwn.cdc.gov/arbocat/VirusBrowser.aspx>). Dans ces environnements, plus de 210 arbovirus différents sont décrits, dont 34 connus pour causer des maladies chez l'homme (Casseb et al. 2014). La plupart de ces virus circulent dans des cycles forestiers enzootiques qui restent mal caractérisés en raison de l'absence d'informations sur leurs hôtes vertébrés naturels ou des espèces d'arthropodes assurant leur transmission. L'anthropisation des forêts et la progression d'espèces vectrices envahissantes telles qu'*Ae. albopictus* pourraient faciliter l'émergence de certains virus par des contacts accrus entre l'homme et les réservoirs de virus.

Cette question est particulièrement pertinente dans les interfaces entre les environnements forestiers et urbains infestés par *Ae. albopictus* dont l'opportunisme alimentaire et la susceptibilité pour un grand nombre

d'arbovirus (Vanlandingham et al. 2016, Pereira dos Santos et al. 2018, Pereira dos Santos, non publié) sont avérés. Ainsi, pour tenter d'explorer le rôle d'*Ae. albopictus* dans la transmission d'arbovirus enzootiques, nous avons réalisé un criblage viral sur les lots de spécimens de cette espèce collectés tout au long de la thèse. Ce criblage a également été étendu aux espèces accompagnatrices d'*Ae. albopictus*.

7.3 : Matériel et méthode.

Nous avons analysé les moustiques collectés de 2015 à 2017 à l'aide d'une nouvelle méthode à haut débit capable d'identifier en parallèle plusieurs dizaines d'arbovirus transmis par les moustiques.

Ce criblage a été réalisé en collaboration avec le Groupe "Bactéries pathogènes vectorisées et spécificité d'hôtes" (équipe VECTOTIQ, UMR BIPAR ANSES-INRA- ENVA) et le laboratoire Arbovirus et Insectes vecteurs de l'Institut Pasteur qui est à l'origine du développement de l'outil conçu à l'aide d'un système microfluidique (système à matrice dynamique BioMark™, Fluidigm). La méthode permet de réaliser des PCR en temps réel par l'emploi parallèle de puces 96,96 ou 48,48, et la mise en œuvre de 9 216 ou 2 304 réactions individuelles respectivement. Trente-quatre arbovirus (correspondant à 94 génotypes/sérotypes) transmis par des moustiques ont été ciblés (Tableau 12). Pour chaque virus des primers spécifiques et des sondes ont été designés et optimisés afin d'être utilisés dans les mêmes conditions PCR au sein de la matrice BioMark Dynamic. Leur sensibilité et leur spécificité ont été validées à l'aide d'ARN de référence (virus produits en culture cellulaire). Pour chaque pool de moustiques, les extraits d'ARNs ont été rétro-transcrits en ADNc (Perfecta

Preamp Supermix, Quanta Biosciences, Beverly, USA). Pour chaque pool positif la confirmation a été réalisé par QPCR individuelle et séquençage ou isolement viral.

Tableau 12 : Liste des virus investigués à l'aide de Puce Fluidigm et classés par familles, genres.

Famille	Genre	Nom du Virus	Nb de génotypes ciblés
Bunyaviridae	<i>Bunyavirus</i>	Cache Valley	1
		Guama	5
		California Encephalitis	2
		Guaroa	3
		Jamestown canyon	1
		Keystone	1
		La Crosse	8
		Oropuche	1
		Snow shoe hare	1
		Tacaiuma	1
		Trivittatus	1
		Apeu	1
		Restan	1
		Murutucu	1
		Oriboca	1
		Nepuyo	1
		Caraparu	2
Itaqui	1		
Flaviviridae	<i>Flavivirus</i>	Dengue	4
		Saint Louis	1
		Fievre Jaune	5
		Ilheus	1
		Rocio	1
		West Nile	8
		Zika	4
Rhabdoviridae	<i>Vesiculovirus</i>	Jurona	1
Togaviridae	<i>Alphavirus</i>	Bussuquara virus	1
		Chikungunya	5
		Encephalites équine de l'Est	2
		Encephalites équine de l'Ouest	2
		Encephalites équine du Vénézuéla	13
		Mayaro	2
		Una	4
		Sindis	6

7.4 : Résultats.

Sur la totalité des moustiques collectés, 11 373 ont été regroupés en 1 667 pools de 1 à 30 spécimens pour la réalisation du criblage de virus à l'aide de la puce fluidigm. Pour les collectes de 2015 et 2016, 7 075 moustiques ont été analysés en 601 pools, alors que pour les collectes de 2017 ce sont 4 298 moustiques qui ont été analysés en 1 066 lots (cf Annexe 8 pour la répartition géographique des lots). Les résultats du

criblage viral sont présentés dans le Tableau 13. Aucune détection virale n'a été cependant été confirmée.

Tableau 13 : Lots détectés positifs avec l'analyse par la Puce Fluidigm. Les lots sont classés par espèces, zones de collecte (Zone), nombre de pools testés (NPT , nombre de pools positifs (NPP), nombre d'individus par pool analysés positifs (NIPP), par virus détectés, identification (Virus), et par statut de confirmation de l'infection virale (Conf).

Espèce	zone	NPT	NPP	NIPP	Virus	Conf
<i>Aedes albopictus</i>	Simonésia	16	2	5	DENV 1	Non
				2	DENV 1	Non
<i>Aedes scapularis</i>	Casimiro de Abreu	33	2	4	DENV 1	Non
				10	DENV 1	Non
	Marica	62	2	5	DENV 1	Non
				10	DENV 1	Non
				4	DENV 1	Non
Serra	48	1	10	WNV	Non testé	
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	Marica	144	2	10	DENV 1	Non
				1	DENV 1	Non
<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	Simonésia	3	1	2	WNV	Non testé
<i>Culex erraticus</i>	Manaus	160	1	30	CHIKV	Non
<i>Culex nigripalpus</i>	Marica	29	3	6	DENV 1	Non
				5	DENV 1	Non
				3	DENV 1	Non
	Rio de Janeiro	67	1	30	TVTV	Non
<i>Culex sp.</i>	Marica	22	1	1	DENV 1	Non
<i>Haemagogus janthinomys</i>	Marica	1	1	1	DENV 1	Non
	Simonésia	2	1	2	DENV 1	Non
<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	Marica	58	3	0	DENV 1	Non
				4	DENV 1	Non
				10	DENV 1	Non testé
	Simonésia	26	1	2	DENV 1	Non
				2	DENV 1	Non
<i>Limattus durhamii</i>	Marica	19	2	2	DENV 1	Non
				5	DENV 1	Non
<i>Runchomyia humboldti</i>	Marica	3	1	1	WNV	Non testé
<i>Sabethes albiprivus</i>	Belo Horizonte	34	1	1	UNA 2	Non testé
	Simonésia	47	1	2	DENV 1	Non
<i>Wyeomyia splendida</i>	Rio de Janeiro	28	1	1	WNV	Non

7.5 : Conclusion.

Sur 1 667 lots de moustiques analysés, représentant 11 373 spécimens de 57 espèces, l'outil de criblage microfluidique a permis la détection de 30 infections. Malheureusement, aucune d'entre-elles n'a pu être confirmée par QPCR individuelle et séquençage indiquant qu'il s'agissait probablement de faux-positifs. Le manque de confirmation des infections peut être dû au fait que le système fluidigm constitue un système plus sensible que la QPCR individuelle.

En effet, avec deux étapes d'amplification, le système par puce pourrait être capable d'augmenter le nombre de copies de petits fragments

du génome viral. Par ailleurs, et malgré des tentatives d'isolement et séquençage sur les moustiques microfluidique-positifs à Manaus et Rio de Janeiro, aucun virus n'a pu être isolé, ou séquencé.

Chapitre 8 : Discussion et perspectives générales.

Actuellement, parmi les maladies infectieuses émergentes, celles transmises par les moustiques font l'objet d'une attention particulière, comme l'émergence du virus Zika en dehors de son aire traditionnelle de répartition géographique et l'apparition de nouvelles pathologies associées qui sont devenues une urgence de santé publique en 2016, en plus des épidémies de chikungunya et de dengue (Gubler 2009, Staples and Fischer 2014, Hills et al. 2017, Possas et al. 2018a, Possas et al. 2018b).

En plus de ces épidémies, qui ont pris des proportions très alarmantes et qui se sont mondialisées, se surajoute la circulation selvatique ou rurale d'autres arbovirus capables de provoquer localement des épidémies, comme les virus de la fièvre jaune, mayaro, oroupuche, des encéphalites équine de l'Ouest, de l'Est, du Venezuela, de la fièvre de la vallée du Rift, entre autres (Casseb et al. 2014). Ces maladies dues à des arbovirus, dont certains demeurent méconnus, présentent un risque d'émergence et de dispersion dans le monde dû à l'homogénéisation croissante de certaines espèces de moustiques invasifs qui peuvent pulluler au voisinage de cycles selvatiques ou ruraux de virus, ainsi que les nombreux déplacements des personnes permettant la rencontre des hôtes porteurs du virus avec le moustique en différentes régions du globe (Kilpatrick et al. 2005, Kilpatrick and Randolph 2012).

Les facteurs locaux qui conduisent à l'émergence de ces arbovirus qui sont à l'origine de maladies chez l'homme, et de leurs conséquences dans un monde globalisé, sont encore mal appréhendés et mal compris (Kilpatrick et al. 2005, Kilpatrick and Randolph 2012). Connaître l'écologie des

vecteurs « bridge », ceux qui sont capables de transférer des agents pathogènes de leur hôtes habituels à des hôtes alternatifs dont l'homme, ou vice versa, est un prérequis crucial pour comprendre ces facteurs.

En ce sens, l'article 1 de cette thèse visait à donner une définition de ces vecteurs ponts, sans lesquels on peut difficilement concevoir les sauts d'espèces qu'effectuent les virus en amont des événements d'émergence des arbovirus.

Plusieurs auteurs ont spéculé dans leurs travaux sur le risque qu'*Ae. albopictus* puisse constituer un vecteur « bridge » pour des arbovirus distincts, mais finalement force est de constater que peu de choses sont effectivement connues pour quantifier son potentiel en tant que tel (Kilpatrick et al. 2005, Paupy et al. 2009, Alencar et al. 2013). Ce risque a souvent été avancé en raison de la plasticité écologique et physiologique de ce moustique, et en particulier de son aptitude à exploiter des collections d'eau naturelles pour le développement des stades larvaires, sa capacité à piquer un large spectre d'animaux et donc de potentiellement d'interagir avec des animaux sauvages ou domestiques pouvant être des réservoirs d'arbovirus (Gubler 2003, Paupy et al. 2009). Afin d'évaluer ces caractéristiques, nous avons, dans notre article 1, quantifié la propension d'*Ae. albopictus* à exploiter des zones naturelles, dans son aire d'origine et dans les aires nouvellement colonisées. À l'origine, les trous d'arbres étaient décrits comme des sites préférentiels de reproduction parmi les gîtes larvaires naturels à côté d'autres récipients naturels comme les trous de bambous et sporadiquement les trous de rochers et les aisselles de feuilles de certaines plantes engainantes (Hawley 1988). Dans l'article 1, il

a été observé qu'en fait, les coques de noix de coco, les broméliacées étaient des sites de reproduction aussi communément utilisés que les trous d'arbres, et que les trous de rochers et les aisselles de feuilles étaient finalement moins communément utilisés. Dans ce même article, nous démontrons également le comportement alimentaire opportuniste d'*Ae. albopictus*, et sa préférence marquée pour les humains, les mammifères domestiques, suivis par les mammifères sauvages et les oiseaux. Dans l'article 2, nous avons confirmé, à travers des analyses de moustiques collectés gorgés de sang, ce pattern de préférences trophique au Brésil. Différentes recherches ont confirmé cette tendance, avec des expériences de choix d'hôtes entre des humains et plusieurs animaux, en plus de données issues de moustiques gorgés collectés sur le terrain (Delatte et al. 2010, Kamgang et al. 2012, Faraji et al. 2014, Sivan et al. 2015). Les résultats des articles 1 et 2 indiquent que les oiseaux ne représentent pas des hôtes préférentiels pour *Ae. albopictus* notamment quand d'autres classes d'hôtes sont disponibles. Par ailleurs les animaux sauvages semblent faire office de second choix quand des hôtes humains ou domestiques sont disponibles. Cependant, cette différence peut être influencée par l'abondance des hôtes disponibles sur les sites de collectes. Par conséquent, il est clairement nécessaire de développer de nouvelles études dans les zones naturelles pour décrire le comportement trophique d'*Ae. albopictus* et son interaction avec la faune sauvage, si possible, en tenant compte de la disponibilité des hôtes vertébrés par le biais de recensements sur le terrain et en calculant les indices de préférences alimentaires (Silver 2008).

La capacité d'*Ae. albopictus* à exploiter des sites d'oviposition dans les milieux naturels et l'alimentation possible sur des animaux sauvages représentent néanmoins des caractéristiques qui peuvent faciliter les interactions de ce moustique avec la faune sauvage et son rôle au sein de cycles enzootiques d'arbovirus. Afin de mieux appréhender ce risque posé par *Ae. albopictus* dans les zones forestières brésiliennes, l'article 2 visait à évaluer la présence et les limites de la colonisation et de la dispersion de cette espèce dans 10 forêts interfaces urbain/forêt du Brésil. Dans ce travail, nous avons observé la colonisation de pendoirs (0 à 300 m) et la dispersion des femelles (0 à 500 m) d'*Ae. albopictus* à partir de la lisière de la forêt à Adolpho Ducke (Manaus), Pedra Branca (Rio de Janeiro) et Morro dos Macacos (Goiania), ainsi que la présence de cette espèce dans tous les fragments forestiers étudiés. Notre résultat est en accord avec les observations de Colles, 1957 et Hawley, 1988, qui suggère une limitation des populations asiatiques de ce moustique à évoluer au sein de forêts climax ou à l'intérieur de forêts tropicales denses (Colless 1959, Hawley 1988). Dans ce même travail, nous observons que les femelles d'*Ae. albopictus* étaient présentes jusqu'à 400 ou 500 m du bord de la forêt, tandis que les mâles étaient détectés à 300 ou 400 m. La rencontre des femelles et des mâles à 300 ou 400 m du bord de la forêt à Adolpho Ducke, Pedra Branca et Morro dos Macacos peut favoriser l'accouplement de l'espèce dans cet environnement, facilité par la rencontre éventuelle d'un hôte sauvage et la présence de sites de reproduction, comme des trous d'arbres ou des aisselles de feuilles. Ainsi, les lisières de forêts peuvent être considérées comme une zone à risque d'émergence, où *Ae. albopictus* peut

servir de vecteur pont dans le transfert de virus entre humains / animaux domestiques / animaux sauvages, ou vice versa. Il convient de noter que dans les forêts du Brésil, 210 arbovirus ont déjà été isolés, dont 110 sont nouveaux pour la science et 34 causent des maladies aux humains (Casseb et al. 2014). Lors de la récente épidémie de fièvre jaune dans ce même pays, *Ae. albopictus* a été trouvé infecté par ce virus (Possas et al. 2018a, Possas et al. 2018b). La littérature décrit également la détection chez cette espèce de virus épidémiques comme Chikungunya (CHIKV), Dengue (DENV, Sérotypes 1,2,3,4) et Zika (ZIKV).

Afin de souligner l'importance de ce moustique dans le risque d'émergence de nouveaux arbovirus, dans l'article 1, nous avons également constaté que ce moustique avait été trouvé naturellement infecté par 7 autres virus : Cache Valley (CVV), Encephalite Equine du Vénézuéla (EEV), Keystone (KEYV), La Crosse (LACV), Potosi (POTV), Tensaw (TENV) et West Nile (WNV). Dans ce premier travail, nous avons évalué quantitativement qu'*Ae. albopictus* est capable de transmettre, en plus des virus épidémiques CHIKV, DENV et ZIKV, 13 arbovirus différents: Orungo (ORUV), LACV, VEEV, EEEV, POTV, Rift Valley fever (RVFV), Chandipura (CHPV), YFV, Jamestown Canyon (JCV), WNV, Japanese Encephalitis (JEV), Mayaro (MAYV) et Ross River (RRV).

Nous avons tenté d'estimer le risque relatif de transfert vers l'homme pour 10 d'entre-eux, en excluant toutefois les virus Orungo, Chandipura et Jamestone Canyon dont la transmission n'a été expérimentalement vérifiée qu'à une seule reprise. De nombreux auteurs ont indiqué une susceptibilité d'infection de cette espèce pour 34 arbovirus, mais en tenant compte des

preuves de transmission nous avons finalement constaté que ce nombre était surestimé (Paupy et al. 2009, Vanlandingham et al. 2016). Parmi les virus dont la transmission par *Ae. albopictus* est effectivement avérée, les populations d'*Ae. albopictus* du Brésil ont été démontrées comme compétentes pour la transmission du virus de la fièvre jaune, ainsi que pour le virus Mayaro (Smith and Francy 1991, Couto-Lima et al. 2017). A plusieurs reprises des épidémies de VEEE, VEEV, WEEV, EEEV, MAYV ont été reportées en milieu rural sur le territoire brésilien (Casseb et al. 2014).

En Afrique, de nombreux arbovirus peuvent être étudiés pour élucider le potentiel de transmission et d'émergence, tels que la fièvre de la vallée du Rift et la fièvre jaune qui présentent des émergences constantes. Aux États-Unis, où *Ae. albopictus* est largement présent, il convient d'étudier les virus LCV, EEEV, WEEV, KEYV, CVV, WNV et POTV (Vanlandingham et al. 2016). En Asie et en Océanie, il existe un potentiel d'émergence et de dispersion du JEV et du RRV.

Parmi les arbovirus présentant un risque d'émergence dû à la possible transmission par *Ae. albopictus*, il convient de noter que certains d'entre eux présentent des difficultés à développer des titres viraux élevés chez l'homme. Ces barrières physiologiques peuvent empêcher l'acquisition du virus par des vecteurs envahissants qui vivent en milieu urbain. Il est important d'accompagner l'évolution de la dynamique de la transmission de ces arbovirus. Ainsi, il faut tester en priorité la compétence vectorielle d'*Ae. albopictus* vis-à-vis de ces arbovirus, afin de prédire les possibles émergences virales en bordure des forêts et de prévenir des

conséquences sanitaires majeures. Car, même s'ils souffrent de la présence de barrières limitant leur multiplication, les virus s'adaptent perpétuellement aux vecteurs notamment aux espèces invasives qui, en offrant assez rapidement des systèmes vectoriels efficaces, peuvent faciliter l'émergence de certaines de ces espèces virales. Par exemple, dans l'Océan Indien et en Afrique Centrale, l'interaction entre *Ae. albopictus* et le CHIKV a conduit à la sélection d'une nouvelle souche virale mieux adaptée à la transmission par *Ae. albopictus* et plus apte à se répandre dans les zones colonisées par cette espèce à l'échelle planétaire (Tsetsarkin and Weaver 2011). Les études sur la sélection des mutations pour les souches plus sensibles à l'infection sont encore limitées et peuvent être utiles pour prédire les événements d'urgence (Tsetsarkin and Weaver 2011).

Dans la présente thèse, nous n'avons pas détecté d'infections par des arbovirus zoonotiques dans les spécimens d'*Ae. albopictus* collectés sur les terrains dans les bordures forestières. Cependant, un effort plus important de collecte et de criblage mériterait d'être réalisé notamment en mettant en place des suivis longitudinaux dans des sites forestiers où la circulation d'arbovirus enzootiques est confirmée. Nous avons pu observer que parmi les espèces susceptibles de transmettre des arbovirus, *Ae. albopictus* était l'espèce la plus fréquemment retrouvée et ce dans tous les fragments forestiers étudiés. Nous avons également pu observer que cette espèce contribuait fortement aux changements des communautés de moustiques dans les fragments forestiers étudiés.

Dans notre étude, Il existe encore des résultats à détailler notamment ceux sur l'impact que cette espèce peut avoir sur la faune sauvage des culicidés, sur laquelle elle peut interagir. D'après nos résultats préliminaires, la diversité des culicidés diminue en bordure des forêts là où *Ae. albopictus* est dominant. Mais il n'est pas possible de mesurer l'impact de cette diminution de la biodiversité, ni l'effet de la présence d'*Ae. albopictus* sur les cycles zoonotiques, ni l'émergence des arbovirus vers la société humaine.

Les résultats des articles 1 et 2 soulignent ensemble les interactions entre *Ae. albopictus* et les animaux qui peuvent affecter la transmission naturelle des arbovirus zoonotiques, impactant les cycles enzootiques de ces virus et augmentant ainsi le risque de transfert à l'homme et l'émergence de nouvelles menaces virales. La diversité des arbovirus pour lesquels *Ae. albopictus* est compétent, et sa présence dans les habitats naturels et dans les zones de bordure forestière, fait de ce moustique un vecteur bridge potentiel. Ce risque est élevé dans les zones considérées comme des points chauds de la biodiversité, principalement aux frontières forestières du Brésil. De plus, la diversité de virus pour lesquels *Ae. albopictus* est compétent est révélatrice des risques épidémiologiques que cette espèce peut causer. Face à cette menace d'émergence épidémique d'arbovirus forestiers, il est nécessaire de surveiller les bordures des forêts où ce vecteur est présent, ainsi que la dynamique de l'évolution virale dans ces régions. Ce, afin d'éviter des conséquences désastreuses pour la santé. Le contrôle des populations d'*Ae. albopictus* au niveau des bordures des forêts au Brésil est complexe, car il s'agit de forêts dotées d'une haute

biodiversité entomologique. Ainsi l'utilisation classique d'insecticides est inenvisageable car il nuirait irrémédiablement à la biodiversité de ces écosystèmes. La surveillance entomologique et virale, comme la recherche scientifique, sont les clés pour agir en amont des émergences virales. Nous estimons donc nécessaire d'effectuer la surveillance d'*Ae. albopictus* à travers des études longitudinales en lisière de forêt, où il existe une surveillance de la circulation des arbovirus. Ces études peuvent avoir comme objectif de déterminer: 1) Les gîtes de reproduction naturels dans lesquels *Ae. albopictus* effectue sa ponte; 2) le comportement alimentaire de cette espèce compte tenu de l'abondance des hôtes vertébrés qui l'entourent; 3) la compétence vectorielle et les mutations des virus présents dans les bordures des forêts brésiliennes, tels que Mayaro et Oropuche; 4) l'infection naturelle chez les moustiques capturés. Si possible, pour les objectifs 2 et 4, il est nécessaire de prendre en compte d'autres espèces vectrices afin de vérifier sur quel cycles enzootiques *Ae. albopictus* pourrait interagir.

Références Bibliographiques

- Ahmed, Q., and Z. Memish. 2017.** Yellow fever from Angola and Congo: a storm gathers. *Trop. Doct.* 47: 92–96.
- Alencar, J., C. F. de Mello, L. S. Barbosa, H. R. Gil-Santana, D. de A. Maia, C. B. Marcondes, and J. D. S. Silva. 2016.** Diversity of yellow fever mosquito vectors in the Atlantic forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 49: 351–356.
- Alencar, J., L. I. A. F. D. E. Mello, F. Morone, S. D. A. Serra-freire, N. D. E. Gallier, P. Se, R. Lucio, and N. Maue. 2013.** Flight Height Preference for Oviposition of Mosquito (Diptera: Culicidae) Vectors of Sylvatic Yellow Fever Virus Near the Hydroelectric Reservoir of Simplicio, Minas Gerais, Brazil. *J. Med. Entomol.* 50: 791–795.
- Allen, T., K. A. Murray, C. Zambrana-Torrel, S. S. Morse, C. Rondinini, M. Di Marco, N. Breit, K. J. Olival, and P. Daszak. 2017.** Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nat. Commun.* 8: 1–10.
- Alto, B. W., and S. A. Juliano. 2001a.** Temperature Effects on the Dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Populations in the Laboratory. *J. Med. Entomol.* 38: 548–556.
- Alto, B. W., and S. A. Juliano. 2001b.** Precipitation and Temperature Effects on Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for Range Expansion. *J. Med. Entomol.* 38: 646–656.
- Alto, B. W., L. P. Lounibos, C. N. Mores, and M. H. Reiskind. 2008.** Larval competition alters susceptibility of adult *Aedes* mosquitoes to dengue infection. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 275: 463–471.
- Amerasinghe, F. P., and T. S. B. Alagoda. 1984.** Mosquito oviposition in bamboo traps, with special reference to *Aedes albopictus*, *Aedes novalbopictus* and *Armigeres subalbatus*. *Insect Sci. Applic.* 5: 493–500.
- Amraoui, F., A. Pain, G. Piorkowski, M. Vazeille, D. Couto-Lima, X. de Lamballerie, R. Lourenço de Oliveira, and A. B. Failloux. 2018.** Experimental Adaptation of the Yellow Fever Virus to the Mosquito *Aedes albopictus* and Potential risk of urban epidemics in Brazil, South America. *Sci. Rep.* 8: 14337.
- Andreadis, T. G., J. F. Anderson, L. E. Munstermann, R. J. Wolfe, and D. A. Florin. 2001.** Discovery, Distribution, and Abundance of the Newly Introduced Mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Connecticut, USA. *J. Med. Entomol.* 38: 774–779.
- Armistead, J., J. Arias, N. Nishimura, and L. Lounibos. 2008.** Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in Northern Virginia. *J. Med. Entomol.* 45: 629–637.
- Armstrong, P. M., J. F. Anderson, A. Farajollahi, S. P. Healy, I. Unlu, T. N. Crepeau, R. Gaugler, D. M. Fonseca, and T. G. Andreadis. 2013.** Isolations of Cache Valley virus from *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in New Jersey and evaluation of its role as a regional arbovirus vector. *J. Med. Entomol.* 50: 1310–4.
- Bartlett-Healy, K., I. Unlu, P. Obenauer, T. Hughes, S. Healy, T. Crepeau, A. Farajollahi, B. Kesavaraju, D. Fonseca, G. Schoeler, R. Gaugler, and D. Strickman. 2012.** Larval Mosquito Habitat Utilization and Community Dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *J.*

Med. Entomol. 49: 813–824.

- Bellini, R., A. Albieri, F. Balestrino, M. Carrieri, D. Porretta, S. Urbanelli, M. Calvitti, R. Moretti, and S. Maini. 2010.** Dispersal and Survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Males in Italian Urban Areas and Significance for Sterile Insect Technique Application. 1082–1091.
- Bhatt, S., P. Gething, O. Brady, J. Messina, A. Farlow, and C. Moyes. 2012.** The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 496: 504–507.
- Blackmore, M. S., and C. C. Lord. 2000.** The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. *J. Vector Ecol.* 25: 212–217.
- Boessenkool, S., L. S. Epp, J. Haile, E. Bellemain, M. Edwards, E. Coissac, E. Willerslev, and C. Brochmann. 2012.** Blocking human contaminant DNA during PCR allows amplification of rare mammal species from sedimentary ancient DNA. *Mol. Ecol.* 21: 1806–1815.
- Bonaldo, M. C., M. M. Gómez, A. A. C. Dos Santos, F. V. S. De Abreu, A. Ferreira-de-Brito, R. M. De Miranda, M. G. De Castro, and R. Lourenço de Oliveira. 2017.** Genome analysis of yellow fever virus of the ongoing outbreak in Brazil reveals polymorphisms. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 112: 447–451.
- Bonizzoni, M., G. Gasperi, X. Chen, and A. James. 2013.** The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future Perspectives. *Trends Parasitol.* 29: 460–468.
- Bova, J., S. Paulson, and G. Paulson. 2016.** Morphological Differentiation of the Eggs of North American Container-Inhabiting *Aedes* Mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 32: 244–246.
- Brady, O., M. Johansson, C. Guerra, S. Bhatt, N. Golding, D. Pigott, H. Delatte, M. Grech, P. Leisnham, R. Maciel-de-Freitas, L. M. Styer, D. Smith, T. W. Scott, P. W. Gething, and S. Hay. 2013.** Modelling adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival at different temperatures in laboratory and field settings. *Parasit. Vectors.* 6: 351–363.
- Braks, M., N. Honório, R. Lourenço de Oliveira, S. Juliano, and L. Lounibos. 2003.** Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. *J. Med. Entomol.* 40: 785–94.
- Brasil, P., G. A. Calvet, A. M. Siqueira, M. Wakimoto, P. C. de Sequeira, A. Nobre, M. de S. B. Quintana, M. C. L. de Mendonça, O. Lupi, R. V. de Souza, C. Romero, H. Zogbi, C. da S. Bressan, S. S. Alves, R. Lourenço de Oliveira, R. M. R. Nogueira, M. S. Carvalho, A. M. B. de Filippis, and T. Jaenisch. 2016.** Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10: 1–13.
- Briegel, H., and S. E. Timmermann. 2001.** *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Physiological Aspects of development and reproduction. *J. Med. Entomol.* 38: 566–571.
- Brown, H. E., M. Paladini, R. A. Cook, D. Kline, D. Barnard, and D. Fish. 2008.** Effectiveness of mosquito traps in measuring species abundance and composition. *J. Med. Entomol.* 45: 517–521.
- Brunini, S., D. D. S. França, J. B. Silva, L. N. Silva, F. P. A. Silva, M. Spadoni, and G. Rezza. 2017.** High frequency of mayaro virus IgM among febrile patients, central Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 23: 1025–1026.
- Calado, D. C., and M. A. Navarro-Silva. 2002.** Influence of temperature on

- longevity, fecundity and hematophageal activity of *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse, 1894 (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions. Rev. Bras. Entomol. 46: 93–98. Portuguese.
- Carrieri, M., M. Bacchi, R. Bellini, and S. Maini. 2003.** On the competition occurring between *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Environ. Entomol. 32: 1313–1321.
- Carvalho, R. G., R. Lourenço de Oliveira, and I. A. Braga. 2014.** Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 109: 787–796.
- Casseb, A., L. Casseb, S. Patroca, and P. Vasconcelos. 2014.** Arbovirus: Important Zoonosis in the Brazilian Amazon. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 20: 9–21. Portuguese.
- Chaves, L. F., G. L. Hamer, E. D. Walker, W. M. Brown, M. O. Ruiz, and U. D. Kitron. 2011.** Climatic variability and landscape heterogeneity impact urban mosquito diversity and vector abundance and infection. Ecosphere. 2: art70.
- Chaves, Ó. M., K. E. Stoner, and V. Arroyo-Rodríguez. 2011.** Seasonal Differences in Activity Patterns of Geoffroy's Spider Monkeys (*Ateles geoffroyi*) Living in Continuous and Fragmented Forests in Southern Mexico. Int. J. Primatol. 32: 960–973.
- Chouin-Carneiro, T., A. Vega-Rua, M. Vazeille, A. Yebakima, R. Girod, D. Goindin, M. Dupont-Rouzeyrol, R. Lourenço de Oliveira, and A. B. Failloux. 2016.** Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. PLoS Negl. Trop. Dis. 10: 1–11.
- Collantes, F., J. A. Delgado, P. M. Alarcón-elbal, S. Delacour, and J. Lucientes. 2014.** First confirmed outdoor winter reproductive activity of Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Europe. An. Biol. 36: 71–76.
- Colless, D. H. 1959.** Notes on the culicine mosquitoes of Singapore. Ann. Trop. Med. Parasitol. 51: 87–101.
- Consoli, R. A. G. B., and R. Lourenço de Oliveira. 1994.** Major mosquitoes of sanitary importance in Brazil. Ed. FIOCRUZ, Rio de Janeiro. Portuguese.
- Cordellier, R. 1991.** L'épidémiologie de la fièvre jaune en Afrique de l'Ouest. Bull. World Health Organ. 69: 73–84.
- da Costa, V. G., V. C. de Rezende Féres, M. V. Saivish, J. B. de Lima Gimaque, and M. L. Moreli. 2017.** Silent emergence of Mayaro and Oropouche viruses in humans in Central Brazil. Int. J. Infect. Dis. 62: 84–85.
- Costanzo, K. S., K. Mormann, and S. A. Juliano. 2005.** Asymmetrical competition and patterns of abundance of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 29: 997–1003.
- Couto-Lima, Di., Y. Madec, M. I. Bersot, S. S. Campos, M. D. A. Motta, F. B. Dos Santos, M. Vazeille, P. F. Da Costa Vasconcelos, R. Lourenço de Oliveira, and A. B. Failloux. 2017.** Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations. Sci. Rep. 7: 4848.
- Cupp, E. W., H. K. Hassan, X. Yue, W. K. Oldland, B. M. Lilley, and T. R. Unnasch. 2007.** West Nile Virus Infection in Mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. J. Med. Entomol. 44: 117–125.
- Cupp, E. W., D. Zhang, X. Yue, M. Cupp, C. Guyer, T. Sprenger, and T.**

- Unnasch. 2004.** Identification of reptilian and amphibian blood meals from mosquitoes in an eastern equine encephalomyelitis virus focus in central Alabama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 71: 272–276.
- Daszak, P., A. a Cunningham, and A. D. Hyatt. 2000.** Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science* (80-). 287: 443–449.
- Davies-Colley, R., G. Payne, and M. Elswijk. 2000.** Microclimate gradients across a forest edge. *N. Z. J. Ecol.* 24: 111–121.
- Delatte, H., J. S. Dehecq, J. Thiria, C. Domerg, C. Paupy, and D. Fontenille. 2008.** Geographic Distribution and Developmental Sites of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. *Vector Control Southeast Asia.* 8: 25–34.
- Delatte, H., A. Desvars, A. Bouétard, S. Bord, G. Gimonneau, G. Vourc'h, and D. Fontenille. 2010.** Blood-Feeding Behavior of *Aedes albopictus*, a Vector of Chikungunya on La Réunion. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 10: 249–258.
- Delatte, H., G. Gimonneau, A. Triboire, D. Fontenille. 2009.** Influence of Temperature on Immature Development , Survival , Longevity , Fecundity , and Gonotrophic Cycles of *Aedes albopictus*, Vector of Chikungunya and Dengue in the Indian Ocean Influence of Temperature on Immature Development , Survival , Longevity. *Entomol. Soc. Am.* 46: 33–41.
- Delatte, H., C. Paupy, J. Dehecq, J. Thiria, A. B. Failloux, and D. Fontenille. 2008.** *Aedes albopictus*, vector des virus du Chikungunya et de la Dengue à la Reunion: Biologie et Controle. *Parasite.* 15: 3–13.
- Eritja, R., J. Palmer, D. Roiz, I. Sanpera-Calbet, and F. Bartumeus. 2017.** Direct Evidence of Adult *Aedes albopictus* Dispersal by Car. *Sci. Rep.* 7: 1–15.
- Estrada-Franco, J., and J. Craig. 1995.** Biology, disease relationships and control of *Aedes albopictus*, Pan Am. Heal. Organ. Washingt.
- Failloux, A., and J.-P. Hervé. 2003.** Bio-écologie et compétence vectorielle d'*Aedes aegypti*, p. 15. In *La Dengue Dans Les Départements Français d'Amériques.*
- Failloux, A., M. Vazeille, and F. Rodhain. 2002.** Geographic genetic variation in populations of the dengue virus vector *Aedes aegypti*. *J. Mol. Evol.* 55: 653–663.
- Faraji, A., A. Egizi, D. M. Fonseca, I. Unlu, T. Crepeau, S. P. Healy, and R. Gaugler. 2014.** Comparative Host Feeding Patterns of the Asian Tiger Mosquito, *Aedes albopictus*, in Urban and Suburban Northeastern USA and Implications for Disease Transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8.
- Farajollahi, A., B. Kesavaraju, D. C. Price, G. M. Williams, S. P. Healy, R. Gaugler, and M. P. Nelder. 2009.** Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. *J. Med. Entomol.* 46: 919–25.
- Flahault, A., G. Aumont, V. Boisson, X. Lamballerie, F. Favier, D. Fontenille, B. Gauzere, S. Journeaux, V. Lotteau, C. Paupy, M.-A. Sanquer, and M. Setbon. 2007.** Chikungunya, La Réunion et Mayotte, 2005–2006: une épidémie sans histoire? *Sante Publique (Paris).* 19: 165–195.
- Focks, D. A. 2004.** Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors, World Heal. Organ.
- Fouque, F., M. Vazeille, L. Mousson, P. Gaborit, R. Carinci, J. Issaly, F.**

- Rodhain, and A. B. Failloux. 2001.** *Aedes aegypti* in French Guiana: Susceptibility to a dengue virus. *Trop. Med. Int. Heal.* 6: 76–82.
- França, L. C., and M. Â. Marini. 2009.** Edge effect test on predation of natural and artificial nests in the Cerrado. *Zoologia.* 26: 241–250. Portuguese.
- Francy, D., N. Krabatsos, C. Wesson, J. Moore, J. Lazuick, T. Niebylski, T. Tsai, and J. Craig. 1990.** A new Arbovirus from *Aedes albopictus*, an Asian mosquito Established in the United States. *Science* (80). 250: 1738–1740.
- Galetti, M., C. P. Alves-Costa, and E. Cazetta. 2003.** Effects of forest fragmentation, anthropogenic edges and fruit colour on the consumption of ornithocoric fruits. *Biol. Conserv.* 111: 269–273.
- Gerhardt, R. R., K. L. Gottfried, C. S. Apperson, B. S. Davis, P. C. Erwin, A. B. Smith, N. A. Panella, E. E. Powell, and R. S. Nasci. 2001.** First isolation of La Crosse virus from naturally infected *Aedes albopictus*. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 807–811.
- Gibrail, M. M., F. S. Fiaccadori, M. Souza, T. N. V. Almeida, J. O. Chiang, L. C. Martins, M. S. Ferreira, and D. das D. de P. Cardoso. 2016.** Detection of antibodies to oropouche virus in non-human primates in Goiânia city, Goiás. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 49: 357–360.
- Go, Y. Y., U. B. R. Balasuriya, and C. Lee. 2014.** Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 3: 58.
- Gomes, A., O. Forattini, I. Kakitani, G. Marques, C. Marques, D. Marucci, and M. Brito. 1992.** Microhabitats of *Aedes albopictus* in the region of Vale do Paraíba, State of São Paulo, Brazil. *Rev. Saúde Pública S. Paulo.* 26: 108–118. Portuguese.
- Gomes, A., M. Torres, M. Gutierrez, F. Lemos, M. Lima, J. Martins, and Z. Costa. 2008.** Record of *Aedes albopictus* in epizootic areas of yellow fever of the Southeast and Southern Regions of Brazil (Diptera: Culicidae). *Epidemiol. Serv. Saúde.* 17: 71–76. Portuguese.
- Gouagna, L., J. Dehecq, D. Fontenille, Y. Dumont, and S. Boyer. 2015.** Seasonal variation in size estimates of *Aedes albopictus* population based on standard mark – release – recapture experiments in an urban area on Reunion Island. *Acta Trop.* 143: 89–96.
- Grard, G., M. Caron, I. M. Mombo, D. Nkoghe, S. Mboui Ondo, D. Jiolle, D. Fontenille, C. Paupy, and E. M. Leroy. 2014.** Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8: e2681.
- Gubler, D. 1971.** Studies on the comparative oviposition behavior of *Aedes (Stegomyia) albopictus* and *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks. *J. Med. Entomol.* 8: 675–682.
- Gubler, D. 2003.** *Aedes albopictus* in Africa. *Lancet.* 3: 751–752.
- Gubler, D. 2009.** Vector-borne diseases. *Rev. Sci. Tech.* 28: 583–8.
- Gubler, D., R. Nalim, H. Saipan, and S. Saroso. 1979.** Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 28: 1045–1052.
- Guedes, M. 2012.** Culicidae (Diptera) no Brasil: Relation entre diversidade, distribution e enfermidades. *Environ. Plan.* 16: 283–296.
- Guzman, M. G., and E. Harris. 2015.** Dengue. *Lancet.* 385: 453–465.
- Hardy, J. L., E. J. Houk, L. D. Kramer, and W. C. Reeves. 1983.** Intrinsic Factors Affecting Vector Competence of Mosquitoes for Arboviruses. *Annu.*

Rev. Entomol. 28: 229–262.

- Harrison, B. A., C. J. Mitchell, C. S. Apperson, G. C. Smith, N. Karabatsos, B. R. Engber, and N. H. Newton. 1995.** Isolation of potosi virus from *Aedes albopictus* in North Carolina. *J Am Mosq Control Assoc.* 11: 225–229.
- Hawley, W. 1988.** The biology of *Aedes albopictus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 4: 1–39.
- Hills, S., M. Fischer, and L. Petersen. 2017.** Epidemiology of Zika Virus Infection. *J. Infect. Dis.* 216: 868–874.
- Holick, J., A. Kyle, W. Ferraro, R. Delaney, and I. Marta. 2002.** Discovery of *Aedes albopictus* infected with west nile virus in Southeastern Pennsylvania. *J. Am. Mosq. Control Assoc. INC.* 18: 131.
- Honório, N. A., R. M. R. Nogueira, C. T. Codeço, M. S. Carvalho, O. G. Cruz, M. D. A. F. M. Magalhães, J. M. G. De Araújo, E. S. M. De Araújo, M. Q. Gomes, L. S. Pinheiro, C. D. S. Pinel, and R. Lourenço de Oliveira. 2009.** Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 3: 1–11.
- Honório, N. A., C. Silva, P. J. Leite, J. Monteiro, L. P. Lounibos, and R. Lourenço de Oliveira. 2003.** Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in an Urban Endemic Dengue Area in the State of Rio de Janeiro , Brazil. 98: 191–198.
- Hulme, P. E. 2009.** Trade, transport and trouble: Managing invasive species pathways in an era of globalization. *J. Appl. Ecol.* 46: 10–18.
- Ibáñez-Bernal, S., B. Briseño, J. P. Mutebi, E. Argot, G. Rodríguez, C. Martínez-Campos, R. Paz, P. Román, R. Tapia-Conyer, and A. Flisser. 1997.** First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Med. Vet. Entomol.* 11: 305–309.
- Jones, K. K. E., N. G. N. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, and P. Daszak. 2008.** Global trends in emerging infectious diseases. *Nature.* 451: 990–3.
- Jost, L. 2007.** Partitioning diversity into independent alpha and Beta Components. *Ecology.* 88: 2427–2439.
- Juliano, S. A., and L. P. Lounibos. 2005.** Ecology of invasive mosquitoes: effect on resident species and human health. *Ecol. Lett.* 8: 558–574.
- Kamgang, B., J. Y. Happi, P. Boisier, F. Njiokou, J. P. Hervé, F. Simard, and C. Paupy. 2010.** Geographic and ecological distribution of the dengue and chikungunya virus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in three major Cameroonian towns. 24: 132–141.
- Kamgang, B., E. Nchoutpouen, F. Simard, and C. Paupy. 2012.** Notes on the blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Cameroon. *Parasit. Vectors.* 5: 57.
- Kamgang, B., C. Ngoagouni, A. Manirakiza, E. Nakouné, C. Paupy, and M. Kazanji. 2013.** Temporal Patterns of Abundance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and Mitochondrial DNA Analysis of *Ae. albopictus* in the Central African Republic. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 7.
- Karesh, W. B., A. Dobson, J. O. Lloyd-Smith, J. Lubroth, M. A. Dixon, M. Bennett, S. Aldrich, T. Harrington, P. Formenty, E. H. Loh, C. C. MacHalaba, M. J. Thomas, and D. L. Heymann. 2012.** Ecology of zoonoses: Natural and unnatural histories. *Lancet.* 380: 1936–1945.
- Kilpatrick, A., L. Kramer, S. Campbell, O. Alleyne, A. Dobson, and P.**

- Daszak. 2005.** West Nile Virus Risk Assessment and the Bridge Vector Paradigm. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 425–429.
- Kilpatrick, A., and S. Randolph. 2012.** Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. *Lancet.* 380: 1946–1955.
- Klink, C. A., and R. B. Machado. 2005.** A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade.* 1: 147–155.
- Klitting, R., C. Fischer, J. Drexler, E. Gould, D. Roiz, C. Paupy, and X. de Lamballerie. 2018.** What Does the Future Hold for Yellow Fever Virus? (II). *Genes (Basel).* 9: 425.
- Klowden, M. J., and H. Briegel. 1994.** Mosquito gonotrophic cycle and multiple feeding potential: Contrasts between *Anopheles* and *Aedes* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 31: 618–622.
- Kollmann, J., and M. Buschor. 2003.** Edges effects on seed predation by rodents in deciduous forests of northern Switzerland. *Plant Ecol.* 164: 249–261.
- Lacour, G., L. Ambert, M. Cros, C. Jeannin, J. Ferre, M. Gion, A. Tran, and C. Lagneau. 2015.** A retrospective review of chikungunya and dengue outbreaks in French Mediterranean area in view of the biology of the Asian tiger mosquito. 34184.
- Lacour, G., L. Chanaud, G. L’Ambert, and T. Hance. 2015.** Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *PLoS One.* 10: 1–16.
- Lacroix, R., H. Delatte, and T. Hue. 2009.** Dispersal and Survival of Male and Female *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island. *J. Med. Entomol.* 1117–1124.
- Lambert, A. J., C. D. Blair, M. D’Anton, W. Ewing, M. Harborth, R. Seiferth, J. Xiang, and R. S. Lanciotti. 2010.** La Crosse Virus in *Aedes albopictus* Mosquitoes, Texas, USA, 2009. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 856–858.
- Lambrechts, L., C. Chevillon, R. Albright, B. Thaisomboonsuk, J. Richardson, R. Jarman, and T. Scott. 2009.** Genetic specificity and potential for local adaptation between dengue viruses and mosquito vectors. *BioMed Cent. Evol. Biol.* 9: 160.
- Laurance, W., P. Fearnside, S. Laurance, T. Lovejoy, J. Merona, Q. Jeffrey, and C. Gascon. 1999.** Relationship between soils and Amazon forest biomass. *For. Ecol. Management.* 118: 127–138.
- Laurance, W., L. Ferreira, J. Merona, and G. Susan. 1998.** Rain Forest Fragmentation and the Dynamics of Amazonian Tree Communities. *Ecol. Soc. Am.* 79: 2032–2040.
- Legendre, P., and M. Caceres. 2013.** Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecol. Lett.* 16: 951–963.
- Leroy, E. M., D. Nkoghe, B. Ollomo, C. Nze-Nkoghe, P. Becquart, G. Grard, X. Pourrut, R. Charrel, G. Moureau, A. Ndjoyi-Mbiguino, and X. De Lamballerie. 2009.** Concurrent chikungunya and dengue virus infections during simultaneous outbreaks, Gabon, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 591–593.
- Liew, C., and C. Curtis. 2004.** Horizontal and vertical dispersal of dengue vector mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, in Singapore. *Med. Vet. Entomol.* 18: 351–360.
- Lima-Camara, T. N. De, N. A. Honório, and R. Lourenço de Oliveira. 2006.**

- Frequency and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 22: 2079–2084. Portuguese.
- Lounibos, L. P. 2002.** Invasions by Insect Vectors of Human Disease. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 233–266.
- Lounibos, L. P., Escher, R.L., Lourenço de Oliveira, R. 2003.** Asymmetric evolution of photoperiodic diapause in temperate and tropical invasive population of *Aedes albopictus*. *Annu. Entomol. Soc. Am.* 96: 512–518.
- Lourenço de Oliveira, R., M. Castro, M. Braks, and L. Lounibos. 2004.** The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J. Vector Ecol.* 29: 94–100.
- Lourenço de Oliveira, R., M. Vazeille, A. N. A. Maria, B. D. E. Filippis, and A. Failloux. 2003.** Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 69: 105–114.
- Lowe, S., M. Browne, S. Boudjelas, and M. De Poorter. 2000.** 100 of the world's worst invasive alien species. *invasive species Spec. Gr.* 13.
- Macdonald, G. 1957.** The epidemiology and control of malaria, First. ed.
- Maciel-De-Freitas, R., R. B. Neto, J. M. Gonçalves, C. T. Codeço, and Lourenço De Oliveira, R. 2006.** Movement of dengue vectors between the human modified environment and an urban forest in Rio de Janeiro. 43: 1112–1120.
- Martins, V. E. P., C. H. Alencar, M. T. Kamimura, F. M. de Carvalho Araújo, S. G. de Simone, R. F. Dutra, and M. I. F. Guedes. 2012.** Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLoS One*. 7: 1–9.
- Martins da Silva, A. 2002.** Immature Of Mosquitoes (Diptera, Culicidae) Of Urban And Rural Areas In Northern Parana State, Brazil. *Series Zool.* 92: 31–36. Portuguese.
- Medeiros-Sousa, A. R., W. Ceretti-Júnior, G. C. de Carvalho, M. S. Nardi, A. B. Araujo, D. P. Vendrami, and M. T. Marrelli. 2015.** Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: Larval habitats and temporal variation. *Acta Trop.* 150: 200–209.
- Medlock, J. M., K. M. Hansford, F. Schaffner, V. Versteirt, G. Hendrickx, H. Zeller, and W. Van Bortel. 2012.** A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 12: 435–447.
- Mitchell, C. J., L. D. Haramis, N. Karabatsos, G. C. Smith, and V. J. Starwalt. 1998.** Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from *Aedes* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994-1995. *J. Med. Entomol.* 35: 573–577.
- Mitchell, C. J., M. L. Niebylski, G. C. Smith, N. Karabatsos, D. Martin, J. P. Mutebi, G. B. J. Craig, and M. J. Mahler. 1992.** Isolation of eastern equine encephalitis virus from *Aedes albopictus* in Florida. *Science*. 257: 526–527.
- Morse, S. S. 1995.** Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 1: 7–15.
- Mourão, M. P. G., M. S. De Bastos, R. M. P. de Figueiredo, J. B. L. De Gimaque, V. do C. R. Alves, M. das G. G. Saraiva, M. L. G. Figueiredo,**

- R. Ramasawmy, M. L. Nogueira, and L. T. M. Figueiredo. 2015.** Arboviral diseases in the western Brazilian Amazon: A perspective and analysis from a tertiary health & research center in Manaus, state of Amazonas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48: 20–26.
- Muñoz, J., R. Eritja, M. Alcaide, T. Montalvo, R. C. Soriguer, and J. Figuerola. 2011.** Host-Feeding Patterns of Native *Culex pipiens* and Invasive *Aedes albopictus* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Urban Zones From Barcelona, Spain. *J. Med. Entomol.* 48: 956–960.
- Muñoz, J., S. Ruiz, R. Soriguer, M. Alcaide, D. S. Viana, D. Roiz, A. Vázquez, and J. Figuerola. 2012.** Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south-west Spain. *PLoS One.* 7.
- Musso, D., V. M. Cao-Lormeau, and D. J. Gubler. 2015.** Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? *Lancet.* 386: 243–244.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca, and J. Kent. 2000.** Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature.* 403: 853–858.
- Nawrocki, S., and W. Hawley. 1987.** Estimation of the Northern Limits of distribution of *Aedes albopictus* in North America. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3: 314–317.
- Neiderud, C. 2015.** How urbanization affects the epidemiology of emerging infectious diseases. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 5: 27060.
- Ngoagouni, C., B. Kamgang, M. Kazanji, C. Paupy, and E. Nakouné. 2017.** Potential of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* populations in the Central African Republic to transmit enzootic chikungunya virus strains. *Parasites and Vectors.* 10: 1–5.
- Oliveira, L. C., and C. E. V. Grelle. 2012.** Introduced Primate Species of an Atlantic Forest Region in Brazil: Present and Future Implications for the Native Fauna. *Trop. Conserv. Sci.* 5: 112–120.
- Pancetti, F. G. M., N. A. Honório, P. R. Urbinatti, and T. N. Lima-Camara. 2015.** Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: A rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48: 87–89.
- Paupy, C., H. Delatte, L. Bagny, V. Corbel, and D. Fontenille. 2009.** *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. *Microbes Infect.* 11: 1177–1185.
- Pereira dos Santos, T., O. G. Cruz, K. A. B. da Silva, M. G. de Castro, A. F. de Brito, R. C. Maspero, R. de Alcântara, F. B. dos Santos, N. A. Honorio, and R. Lourenço de Oliveira. 2017.** Dengue serotype circulation in natural populations of *Aedes aegypti*. *Acta Trop.* 176: 140–143.
- Pereira dos Santos, T., D. Roiz, F. de Abreu, S. Luz Bessa, M. Santa Lucia, D. Jiolle, N. Neves, F. Simard, R. Lourenço de Oliveira, and C. Paupy. 2018.** Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for zoonotic pathogens at the urban-forest interface of Brazil. *Emerg. Microbes Infect.* 7: 1–8.
- Pessanha, J. E. M., W. T. Caiafa, A. B. Cecilio, F. C. de Melo Iani, S. C. Araujo, J. C. Nascimento, E. G. Kroon, F. A. Proietti, and J. R. Arias. 2011.** Cocirculation of two dengue virus serotypes in individual and pooled samples of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 44: 103–105.
- Possas, C., R. Lourenço de Oliveira, P. L. Tauil, F. de P. Pinheiro, A.**

- Pissinatti, R. Venancio da Cunha, M. Freire, R. Menezes Martins, and A. Homma. 2018.** Yellow Fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunization. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 113: e180278.
- Possas, C., R. M. Martins, R. Lourenço de Oliveira, and A. Homma. 2018.** Urgent call for action: Avoiding spread and re-urbanisation of yellow fever in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 113: 1–2.
- Redding, T. E., G. D. Hope, M.-J. Fortin, M. G. Schmidt, and W. G. Bailey. 2003.** Spatial patterns of soil temperature and moisture across subalpine forest-clearcut edges in the southern interior of British Columbia. *Can. J. Soil Sci.* 83: 121–130.
- Reisen, W. K. 2010.** Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 55: 461–483.
- Reiskind, M. H., and L. P. Lounibos. 2009.** Effects of intraspecific larval competition on adult longevity in the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* 23: 62–68.
- Reynolds, J., M. F. Poelchau, Z. Rahman, P. A. Armbruster, and D. L. Denlinger. 2012.** Transcript profiling reveals mechanisms for lipid conservation during diapause in the mosquito, *Aedes albopictus*. *J. Insect Physiol.* 58: 966–973.
- Rezza, G., L. Nicoletti, R. Angelini, R. Romi, A. Finarelli, M. Panning, P. Cordioli, C. Fortuna, S. Boros, F. Magurano, G. Silvi, P. Angelini, M. Dottori, M. Ciufolini, G. Majori, and A. Cassone. 2007.** Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet.* 370: 1840–1846.
- Rodrigues, E. 1998.** Edge effects on the regeneration of forest fragments in North Paraná. *Dep. Org. Evol. Biol.*
- Romi, R., F. Severini, and L. Toma. 2006.** Cold Acclimation and Overwintering of Female *Aedes albopictus* in Roma. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 22: 149–151.
- Savage, H., M. Niebylski, G. Smith, C. Mitchell, and G. Craig. 1993.** Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at a temperate North American site. *J. Med. Entomol.* 30: 27–34.
- Sawabe, K. 2015.** Autochthonous dengue outbreak in Japan after a blank of 70 years and the future prediction of such cases. *Med. Entomol. Zool.* 66: 203–205.
- Schaffner, F., and S. Karch. 2000.** Première observation d '*Aedes albopictus* (Skuse , 1894) en France métropolitaine. *Comptes Rendus l'Académie des Sci. - Ser. III - Sci. la Vie.* 323: 373–375.
- Silva, J. D. S., C. M. Lopes, A. É. Guimarães, C. F. De Mello, and J. Alencar. 2017.** Diversity of Mosquitoes At the Itatiaia National Park, State of Rio De Janeiro, Brazil. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 33: 270–275.
- Silver, J. B. 2008.** Mosquito ecology: field sampling methods, Third. ed.
- Sivan, A., A. Shriram, I. Sunish, and P. Vidhya. 2015.** Host-feeding pattern of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in heterogeneous landscapes of South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. *Parasitol. Res.* 114: 3539–3546.
- Smith, G. C., and D. B. Francy. 1991.** Laboratory studies of a Brazilian strain of *Aedes albopictus* as a potential vector of Mayaro and Oropouche viruses. *J Am Mosq Control Assoc.* 7: 89–93.

- Soghigian, J., T. G. Andreadis, and T. P. Livdahl. 2017.** From ground pools to treeholes: Convergent evolution of habitat and phenotype in *Aedes mosquitoes*. *BMC Evol. Biol.* 17: 1–13.
- Sota, T. 1993.** Response to selection for desiccation resistance in *Aedes albopictus* eggs (Diptera: Culicidae). *Appl. Entomol. Zool.* 28: 161–168.
- Sota, T., and M. Mogi. 1992.** Survival time and resistance to desiccation of diapause and non-diapause eggs of temperate *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes. *Entomol. Exp. Appl.* 63: 155–161.
- Sota, T., M. Mogi, and E. Hayamizu. 1992.** Seasonal distribution and habitat selection by *Aedes albopictus* and *Aedes riversi* (Diptera: Culicidae) in Northern Kyushu, Japan. *J. Med. Entomol.* 29: 296–304.
- Souza, T. M. A., E. L. Azeredo, J. Badolato-Corrêa, P. V. Damasco, C. Santos, F. Petitinga-Paiva, P. C. G. Nunes, L. S. Barbosa, M. C. Cipitelli, T. Chouin-Carneiro, N. R. C. Faria, R. M. R. Nogueira, F. de Bruycker-Nogueira, and F. B. dos Santos. 2017.** First Report of the East-Central South African Genotype of Chikungunya Virus in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS Curr.*
- Staples, E., and M. Fischer. 2014.** Chikungunya virus in the Americas-what a vectorborne pathogen can do. *N. Engl. J. Med.* 371: 887–889.
- Tabarelli, M., M. Cardoso da Silva, and C. Gascon. 2004.** Forest fragmentation, synergisms and the impoverishment of neotropical forests. *Biodivers. Conserv.* 13: 1419–1425.
- Taylor, L. H., S. M. Latham, M. E. J. Woolhouse, S. M. Latham, and E. Bush. 2001.** Risk factors for human disease emergence. *R. Soc.* 356: 983–989.
- Teng, H.-J., and C. S. Apperson. 2000.** Development and Survival of Immature *Aedes albopictus* and *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the Laboratory: Effects of Density, Food, and Competition on Response to Temperature. *J. Med. Entomol.* 37: 40–52.
- Tsetsarkin, K. A., and S. C. Weaver. 2011.** Sequential adaptive mutations enhance efficient vector switching by chikungunya virus and its epidemic emergence. *PLoS Pathog.* 7.
- Urbanski, J. M., J. B. Benoit, M. R. Michaud, D. L. Denlinger, and P. Armbruster. 2010.** The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 277: 2683–2692.
- Vanlandingham, D., S. Higgs, and Y.-J. Huang. 2016.** *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and Mosquito-Borne Viruses in the United States. *J. Med. Entomol.* 53: 1024–1028.
- Vasconcelos, P. F. C., A. P. A. Travassos da Rosa, F. P. Pinheiro, R. E. Shope, J. F. S. Travassos da Rosa, S. G. Rodrigues, N. Dégallier, and E. S. Travassos da Rosa. 1998.** Arboviruses pathogenic for man in Brazil. *An Overv. Arbovirology brazil Neighb. Ctries.* 72–99.
- Vasilakis, N., J. Cardoso, K. A. Hanley, E. C. Holmes, and S. C. Weaver. 2011.** Fever from the forest: Prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. *Nat. Rev. Microbiol.* 9: 532–541.
- Vega-Rua, A. 2016.** Émergence du virus chikungunya en Amérique et en Europe.
- Venturi, G., M. Di Luca, C. Fortuna, M. Elena Remoli, F. Riccardo, F. Severini, L. Toma, M. Del Manso, E. Benedetti, M. Grazia Caporali, A.**

- Amendola, C. Fiorentini, C. De Liberato, R. Giammattei, R. Romi, P. Pezzotti, G. Rezza, C. Rizzo, V. Giulietta, D. Luca Marco, F. Claudia, R. Maria Elena, R. Flavia, S. Francesco, T. Luciano, D. Manso Martina, B. Eleonora, C. Maria Grazia, A. Antonello, F. Cristiano, D. Liberato Claudio, G. Roberto, R. Roberto, P. Patrizio, R. Giovanni, and R. Caterina. 2017. Detection of a chikungunya outbreak in Central Italy. *Detection of a chikungunya outbreak in Central. Euro Surveill.* 22: 1–4.
- Weaver, S. C. 2005. Host range, amplification and arboviral disease emergence. *Arch. Virol. Suppl.* 33–44.
- Weaver, S. C., and A. D. T. Barrett. 2004. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 789–801.
- Weaver, S. C., and W. K. Reisen. 2010. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 85: 328–345.
- Westbrook, C., M. Reiskind, K. Pesko, K. Greene, and L. Lounibos. 2010. Larval environmental temperature and the susceptibility of *Aedes albopictus* skuse (Diptera: Culicidae) to chikungunya virus. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 10: 241–247.
- Westby, K. M., C. Fritzen, D. Paulsen, S. Poindexter, and A. C. Moncayo. 2015. La Crosse Encephalitis Virus Infection in Field-Collected *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, and *Aedes triseriatus* in Tennessee. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 31: 233–241.
- Whitmee, S., A. Haines, C. Beyrer, F. Boltz, A. G. Capon, B. F. De Souza Dias, A. Ezeh, H. Frumkin, P. Gong, P. Head, R. Horton, G. M. Mace, R. Marten, S. S. Myers, S. Nishtar, S. A. Osofsky, S. K. Pattanayak, M. J. Pongsiri, C. Romanelli, A. Soucat, J. Vega, and D. Yach. 2015. Safeguarding human health in the Anthropocene epoch: Report of the Rockefeller Foundation-Lancet Commission on planetary health. *Lancet.* 386: 1973–2028.
- Wilcox, B. a, and D. J. Gubler. 2005. Disease ecology and the global emergence of zoonotic pathogens. *Environ. Health Prev. Med.* 10: 263–272.
- Xavier, D. R., M. de A. F. M. Magalhães, R. Gracie, I. C. dos Reis, V. P. de Matos, and C. Barcellos. 2017. Dengue space-time diffusion in the Municipality of Rio de Janeiro, Brazil, during the 2000-2013. *Cad. Saude Publica.* 33: 1–13. Portuguese.
- Xue, R., D. Barnard, and G. Muller. 2010. Effects of body size and nutritional regimen on survival in adult *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 47: 778–782.
- Yoshioka, M., J. Couret, F. Kim, J. McMillan, T. R. Burkot, E. M. Dotson, U. Kitron, and G. M. Vazquez-Prokopec. 2012. Diet and density dependent competition affect larval performance and oviposition site selection in the mosquito species *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasites and Vectors.* 5: 1–11.
- Zanluca, C., V. C. A. De Melo, A. L. P. Mosimann, G. I. V. Dos Santos, C. N. D. dos Santos, and K. Luz. 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 110: 569–572.
- Zouache, K., A. Fontaine, A. Vega-Rua, L. Mousson, J. M. Thiberge, R. Lourenco de Oliveira, V. Caro, L. Lambrechts, and A. B. Failloux. 2014.

Three-way interactions between mosquito population, viral strain and temperature underlying chikungunya virus transmission potential. *Proc. R. Soc. B, Biol. Sci.* 281: 1792.

Zuidema, P. A., J. A. Sayer, and W. Dijkman. 1996. Forest fragmentation and biodiversity: the case for intermediate-sized conservation areas. *Environ. Conserv.* 23: 290.

Zuur, A. F., E. N. Ieno, and C. S. Elphick. 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.* 1: 3–14.

Zuur, A. F., E. N. Ieno, and G. Smith. 2007. *Analysing Ecological Data*, first ed. Springer US.

Annexes

Annexe 1 : Protocole d'extraction d'ARN

NucleoSpin RNA II, Macherey-Nagel

Préparation des solutions:

- rDNase : lyophilisé

Ajouter le volume indiqué sur le tube (540 µl de RNase-free H₂O) remettre en suspension la solution. Conserver à – 20°C.

Remarque: ne mélangez pas vigoureusement! La rDNase est fragile.

- Ethanol 70%: 30 ml de H₂O + 70 ml d' ethanol 100%. Conserver à température ambiante.
- Wash Buffer RA3: Add 100 ml d' ethanol 100%. Conserver à température ambiante.

Extraction

- Échantillon :

l'extraction est réalisée sur 75 µl de broyat de moustique dans du milieu (conservée à -80 ° C)

- Lyse de cellules :

Ajouter 350 µl de tampon RA1 + 3,5 µl de β-mercaptoéthanol et vortexer vigoureusement.

- Filtrer le lysat :

Placez le filtre NucleoSpin® Filter (anneau violet) dans un tube collecteur (2 ml), appliquez le mélange et centrifugez pendant 1 minute à 11 000 g.

- Ajuster les conditions d'adsorption de l'ARN :

Jeter le filtre NucleoSpin® et ajouter 350 µL d'éthanol (70%) au lysat homogénéisé et mélanger au vortex (2 x 5 s).

- Adsorption l'ARN :

Pour chaque préparation, prenez une colonne NucleoSpin® RNA II (anneau bleu clair) placée dans un tube collecteur. Pipeter le lysat de haut en bas 2 à 3 fois et charger le lysat dans la colonne. Centrifuger pendant 30 s à 11 000 x g.

Placez la colonne dans un nouveau tube de prélèvement (2 ml).

Remarque: La capacité de charge maximale des colonnes NucleoSpin® RNA II est de 750 µL. Répétez la procédure si des volumes plus importants doivent être traités.

- Dessaler la membrane de silice :

Ajouter 350 µl de MDB (Membrane Desalting Buffer) et centrifuger à 11 000 x g pendant 1 min pour sécher la membrane.

- Digestion de l'ADN :

Préparez le mélange réactionnel de DNase dans un tube à centrifuger stérile de 1,5 mL (non fourni). Pour chaque isolement, ajouter 10 µL de rDNase reconstituée à 90 µL de tampon de réaction pour la rDNase. Mélanger en tapotant le tube. Appliquer 95 µL de mélange réactionnel DNase directement sur le centre de la membrane de silice de la colonne. Incuber à température ambiante pendant 15 min.

- Laver et sécher la membrane de silice :

Ajouter 200 µL de tampon RA2 à la colonne NucleoSpin® RNA II. Centrifuger pendant 30 s à 11 000 x g. Placez la colonne dans un nouveau tube de prélèvement (2 ml).

Ajouter 600 µL de tampon RA3 à la colonne NucleoSpin® RNA II. Centrifuger pendant 30 s à 11 000 x g. Jeter le fluide et replacer la colonne dans le tube de collecte.

Ajouter 250 µL de tampon RA3 à la colonne NucleoSpin® RNA II. Centrifuger pendant 2 min à 11 000 x g pour sécher complètement la membrane. Placez la colonne dans un tube collecteur sans nucléase (1,5 ml, fourni).

Remarque: Assurez-vous que le tampon résiduel de l'étape de lavage précédente est éliminé avec le tampon RA3.

- Éluion :

Éluer l'ARN avec H₂O RNase free (fournie): 50 µl pour les virus purs

Centrifuger à 11 000 x g. pendant 1 min.

Conserver le tube à -80 ° C

Annexe 2 : Protocole d'extraction d'ADN sur des moustiques.

Kit Qiagen DNeasy blood & tissue

Broyer chaque moustique avec piston dans 180µL de tampon ATL + 20µL de Protéinase K, vortexer (5 à 10s).

Incuber au bain marie à 56°C (1h30). Vortexer occasionnellement pendant l'incubation. Vortexer 15s et centrifuger à 10000 rpm pendant 15s.

Ajouter 200µL tampon AL et mélanger à la pipette.

Ajouter 200µL d'éthanol absolu, vortexer 5 à 10s. Centrifuger à 10 000rpm pendant 15s.

Pipeter la mixture et transférer dans la colonne DNeasy préalablement placée dans un tube de collection. Centrifuger à 8000 rpm pendant 1 min

Placer la colonne dans un nouveau tube de collection de 2mL, puis ajouter 500µL de tampon AW1. Centrifuger pendant 1 min à 8000 rpm, jeter le liquide d'élution.

Placer la colonne DNeasy dans un nouveau tube de collection et ajouter 500µL de tampon AW2. Centrifuger pendant 3 min à 14 000 rpm pour sécher la membrane.

Placer la colonne DNeasy dans un tube 1,5mL, ajouter 50µL de tampon AE directement sur la membrane et incuber pendant 1 min à température ambiante Centrifuger à 8000rpm 1min.

Répéter l'élution avec 50 µL (même tube).
Conserver à -20°C.

Annexe 3 : Conditions de PCR pour l'amplification des gènes 16s ribosomal RNA et Cytochrome B.

Gene	Primer Name	Séquence du primer (5'-3')	réactif et concentration pour 50µl	conditions PCR	Taille du frgment (paires de bases)
16s Ribosomal RNA	6SMAM 1	CGGTTGGGGTGACCT CGGA	Eau (35,2 µl)	94°C dénaturation (2')	150
	16SMA M2	GCTGTTATCCCTAGGG TAACT	Tp 10X (5 µl)	94°C dénaturation (30")	
			Mgcl2 (2mM)	60°C annealing (30")	
			dNTP (0.04mM)	68°C extension (30")	
			16Smam1 (0,16µM)	72°C extension finale (10')	
			16Smam2 (0,16µM)	10°C final (10')	
			TAQ Platinum Invitrogen (0,04U) ADN (5µl)		
Cytochrome B	CYTB2 F	CCCCTCAGAATGATAT TTGTCCTCA	Eau (34,3 µl)	94°C dénaturation (1')	383
	CYTBR	CCATCCAACATCTCAG CATGATGAAA	Tp 10X (5 µl)	94°C dénaturation (30")	
			Mgcl2 (4.8 mM)	60°C annealing (50")	
			dNTP (0.2mM)	68°C extension (1')	
			16Smam1 (0,2 µM)	72°C extension finale (10')	
			16Smam2 (0,2µM)	10°C final(10')	
			TAQ Platinum Invitrogen (0,02U) ADN (5µl)		

Annexe 4 : Résumé des analyses moléculaires permettant de déterminer l'origine des repas de sang des spécimens gorgés.

Sites : M (Manaus), GO (Goiania) et RJ (Rio de Janeiro); Dist: distance du bord de la forêt; Mosq: Moustiques analysés, AA (*Aedes albopictus*), CCS (*Culex (Culex) sp*), CE (*Culex erraticus*), CQ (*Culex quinquefasciatus*) CM (*Culex molis*), CN (*Culex nigripalpus*), CV (*Coquiletidia venezuelensis*), LM (*Limatus durhamii*), TD (*Trichoposopum digitatum*), WS (*Wyeomyia splendida*); MS: Maximum score; TS: total score; QC: query cover; E value et Ident (identity): valeurs des paramètres retenus de l'analyse BLAST(NCBI website); 16s, 16S rRNA gene; CYTB, cytochrome B oxidase gene.

Area	Dist	Mosq	Primers	Vertébré	MS	TS	QC	E value	Ident
M	0		16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	137	137	100%	3.00E-29	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	171	171	96%	3.00E-39	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	167	167	94%	5.00E-38	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	172	172	97%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	143	143	100%	6.00E-31	99%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	113	113	96%	6.00E-22	87%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	169	169	95%	1.00E-38	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	165	165	96%	2.00E-37	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	167	167	96%	5.00E-38	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	134	134	92%	5.00E-28	92%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	145	145	97%	2.00E-31	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	172	172	95%	1.00E-39	99%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	165	165	96%	2.00E-37	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	147	147	100%	4.00E-32	100%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	171	171	100%	3.00E-39	96%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	100%	3.00E-40	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	100%	9.00E-40	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	176	176	97%	8.00E-41	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	167	167	93%	5.00E-38	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	93%	2.00E-36	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	99%	2.00E-42	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	95%	2.00E-41	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	141	141	100%	2.00E-30	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	119	119	98%	1.00E-23	88%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	94%	2.00E-41	99%
		16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	93%	2.00E-41	99%	
		AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	132	132	100%	1.00E-27	94%

Suite

Area	Dist	Mosq	Primers	Vertébré	MS	TS	QC	E value	Ident
M	0	AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	98%	2.00E-42	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	180	180	98%	6.00E-42	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	96%	5.00E-28	91%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	97%	1.00E-39	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	95%	2.00E-41	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	97%	2.00E-42	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	98%	4.00E-28	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	92%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	152	152	94%	1.00E-33	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	168	168	99%	2.00E-38	96%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	93%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	140	140	92%	7.00E-30	94%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	165	165	98%	2.00E-37	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	100%	2.00E-28	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	156	156	94%	1.00E-34	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	63.9	63.9	43%	5.00E-07	97%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	569	569	97%	1.00E-158	99%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	573	573	96%	1.00E-159	99%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	586	586	99%	1.00E-163	99%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	582	582	96%	2.00E-162	100%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	579	579	98%	2.00E-161	99%
		16s	<i>Rattus norvegicus</i>	106	106	95%	1.00E-19	87%	
		COY	<i>Rattus norvegicus</i>	398	398	98%	6.00E-107	90%	
		16s	<i>Tonatia bidens</i>	82.4	82.4	60%	1.00E-12	96%	
		COY	<i>Taraba major</i>	466	466	90%	2.00E-127	96%	
		16s	<i>Tonatia bidens</i>	78.8	78.8	62%	1.00E-11	96%	

Suite

Area	Dist	Mosq	Primers	Vertébré	MS	TS	QC	E value	Ident
M	0	CCS	16s	<i>Gallus gallus</i>	143	143	87%	6.00E-31	94%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	92%	3.00E-40	99%
		CE	16s	<i>Bos taurus</i>	113	113	89%	5.00E-22	92%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	137	137	93%	4.00E-29	93%
		CM	COY	<i>Homo sapiens</i>	580	580	99%	6.00E-162	99%
			16s	<i>Caluromys philander</i>	169	169	98%	1.00E-38	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	158	158	90%	3.00E-35	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	163	163	96%	6.00E-37	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	168	168	98%	2.00E-38	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	172	172	97%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	174	174	95%	3.00E-40	99%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	167	167	98%	5.00E-38	97%
			16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	104	104	95%	4.00E-19	86%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	174	174	93%	4.00E-40	98%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	176	176	96%	1.00E-40	96%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	181	181	91%	2.00E-42	99%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	163	163	100%	6.00E-37	97%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	143	143	93%	6.00E-31	93%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	141	141	100%	2.00E-30	99%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	152	152	90%	1.00E-33	94%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	183	183	93%	5.00E-43	98%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	191	191	96%	3.00E-45	99%
			16s	<i>Gallus gallus</i>	172	172	94%	1.00E-39	96%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	405	405	96%	4.00E-109	90%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	580	580	100%	6.00E-162	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	584	584	98%	5.00E-163	100%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	560	560	97%	8.00E-156	98%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	568	568	96%	5.00E-158	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	573	573	97%	1.00E-159	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	568	568	98%	5.00E-158	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	573	573	97%	1.00E-159	99%

Suite

Area	Dist	Mosq	Primers	Vertébré	MS	TS	QC	E value	Ident
M	0	CM	COY	<i>Gallus gallus</i>	562	562	97%	2.00E-156	98%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	579	579	98%	2.00E-161	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	575	575	99%	3.00E-160	99%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	446	446	94%	2.00E-121	93%
			COY	<i>Gallus gallus</i>	575	575	98%	3.00E-160	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	165	165	92%	2.00E-37	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	100	100	94%	4.00E-18	88%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	99%	1.00E-39	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	176	176	94%	1.00E-40	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	152	152	98%	1.00E-33	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	93%	2.00E-36	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	168	168	93%	2.00E-38	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	152	152	100%	1.00E-33	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	93.5	93.5	100%	6.00E-16	86%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	93%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	176	176	93%	1.00E-40	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	132	132	93%	1.00E-27	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	143	143	92%	9.00E-31	94%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	156	156	92%	1.00E-34	96%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	139	139	94%	1.00E-29	93%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	122	122	95%	9.00E-25	92%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	97.1	97.1	80%	6.00E-17	91%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	143	143	96%	6.00E-31	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	169	169	94%	1.00E-38	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	148	148	95%	2.00E-32	94%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	577	577	98%	8.00E-161	99%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	459	459	98%	3.00E-125	93%
16s	<i>Panthera onca voucher</i>	163	163	98%	7.00E-37	96%			
16s	<i>Rhinella schneideri</i>	185	185	94%	2.00E-43	96%			

Suite

Area	Dist	Mosq	Primers	Vertébré	MS	TS	QC	E value	Ident
M	100	AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	150	150	100%	4.00E-33	93%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	87.8	87.8	88%	4.00E-14	82%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	577	577	99%	8.00E-161	98%
		CE	16s	<i>Homo sapiens</i>	138	138	96%	3.00E-29	93%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	147	147	95%	7.00E-32	94%
		CM	16s	<i>Bos taurus</i>	150	150	97%	5.00E-33	94%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	111	111	93%	2.00E-21	87%
		TD	COY	<i>Gallus gallus</i>	582	582	97%	2.00E-162	100%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	93%	2.00E-36	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	97%	3.00E-40	97%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	150	150	93%	5.00E-33	95%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	95%	2.00E-41	99%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	95%	3.00E-40	98%
	COY		<i>Homo sapiens</i>	520	520	98%	1.00E-143	96%	
	COY		<i>Homo sapiens</i>	560	560	98%	8.00E-156	99%	
	COY	<i>Homo sapiens</i>	569	569	97%	1.00E-158	99%		
	COY	<i>Homo sapiens</i>	503	503	97%	1.00E-138	96%		
	200	CC	COY	<i>Homo sapiens</i>	566	566	97%	2.00E-157	99%
	400	CCS	COY	<i>Homo sapiens</i>	568	568	97%	5.00E-158	99%
GO	0	CV	16s	<i>Sphiggurus insidiosus</i>	135	135	97%	1.00E-28	97%
		LD	16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	165	165	96%	2.00E-37	98%
		AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	167	167	93%	5.00E-38	97%
	100	CV	16s	<i>Euryzgomatomys guiara</i>	100	100	90%	3.00E-18	92%
	300	CE	COY	<i>Taraba major</i>	440	440	90%	1.00E-119	94%
RJ	0	AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	99%	2.00E-36	94%
		CN	16s	<i>Gallus gallus</i>	172	172	95%	1.00E-39	97%
		CQ	16s	<i>Didelphis virginiana</i>	150	150	94%	5.00E-33	96%
			16s	<i>Equus caballus</i>	165	165	96%	2.00E-37	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	180	180	97%	6.00E-42	98%
			16s	<i>Homo sapiens</i>	180	180	97%	6.00E-42	98%
	100	CQ	16s	<i>Equus caballus</i>	169	169	100%	1.00E-38	97%
		AA	COY	<i>Homo sapiens</i>	592	592	97%	3.00E-165	100%
			COY	<i>Homo sapiens</i>	564	564	96%	6.00E-157	99%
	200	AA	16s	<i>Homo sapiens</i>	169	169	94%	1.00E-38	98%
		CQ	16s	<i>Canis lupus familiaris</i>	171	171	98%	3.00E-39	98%
		LD	16s	<i>Sphiggurus insidiosus</i>	158	158	97%	3.00E-35	95%
		WS	16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	100%	3.00E-40	97%

Annexe 5 : Information supplémentaire de l'Article 1.

Is *Aedes albopictus* an efficient bridge vector for zoonotic arbovirus ?

Pereira dos Santos Taissa¹, Roiz David¹, Ricardo Lourenço de Oliveira² and Paupy Christophe¹

Authors' affiliations:

¹Laboratoire MIVEGEC, IRD, CNRS, Univ. Montpellier. Centre IRD de Montpellier, 911, Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France; ²LATHEMA, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil

Table S1 : List of the 16 articles found on search Google Scholar to characterize on which types of natural breeding sites *Ae. albopictus*.

References
Gomes <i>et al.</i> Microhabitats de <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. <i>Rev. Saúde Pública S. Paulo</i> 26 , 108–118 (1992).
Forattini, O. P., Marques, G. R. A. M., Kakitani, I., De Brito, M. & Sallum, M. A. M. Significado epidemiológico dos criadouros de <i>Aedes albopictus</i> em bromélias. <i>Rev. Saude Publica</i> 32 , 186–188 (1998).
Delatte, H. <i>et al.</i> Evidence of Habitat Structuring <i>Aedes albopictus</i> Populations in Réunion Island. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> 7 , (2013).
Martins da Silva, A. Imaturos De Mosquitos (Diptera, Culicidae) De Áreas Urbana E Rural No Norte Do Estado Do Paraná, Brasil 1. <i>Sér. Zool. Porto Alegre</i> 92 , 31–36 (2002).
Li, Y. <i>et al.</i> Urbanization Increases <i>Aedes albopictus</i> Larval Habitats and Accelerates Mosquito Development and Survivorship. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> 8 , (2014).
Hiscox, A. <i>et al.</i> Risk factors for the presence of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in domestic water-holding containers in areas impacted by the Nam Theun 2 hydroelectric project, Laos. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 88 , 1070–1078 (2013).
Hiscox, A. <i>et al.</i> Risk factors for the presence of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in domestic water-holding containers in areas impacted by the Nam Theun 2 hydroelectric project, Laos. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 88 , 1070–1078 (2013).
Marquetti, M., Bisset, J., Levva, M., Garcia, A. & Rodriguez, M. Comportamiento estacional y temporal de <i>Aedes aegypti</i> y <i>Aedes albopictus</i> en La Habana, Cuba. 60 , 62–67 (2008).
Amerasinghe, F. P. & Alagoda, T. S. B. Mosquito oviposition in bamboo traps, with special reference to <i>Aedes albopictus</i> , <i>Aedes novalbopictus</i> and <i>Armigeres subalbatus</i> . <i>Insect Sci. Applic.</i> 5 , 493–500 (1984).
S. K., Rozeboom, L. E. & Bhattacharya, N. C. Observations on possible competitive displacement between populations of <i>Aedes aegypti</i> Linnaeus and <i>Aedes albopictus</i> Skuse in Calcutta. <i>Bull. World Health Organ.</i> 37 , 437–446 (1967).
Kamgang, B. <i>et al.</i> Temporal Patterns of Abundance of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) and Mitochondrial DNA Analysis of <i>Ae. albopictus</i> in the Central African Republic. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> 7 , (2013).
Forattini, O. P. & Brito, M. de B. Brief Communication an Unusual Ground Larval Habitat of <i>Aedes albopictus</i> . 40 :121-122 (1998).
Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J. Med. Entomol.</i> 42 , 726–731 (2005).
Sota, T., Mogi, M. & Hayamizu, E. Seasonal distribution and habitat selection by <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes riversi</i> (Diptera: Culicidae) in Northern Kyushu, Japan. <i>J. Med. Entomol.</i> 29 , 296–304 (1992).
Thavara, U. <i>et al.</i> Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential mosquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. <i>J. Vector Ecol.</i> 26 , 172–180 (2001).
Brito, M. d. & Forattini, O. P. Produtividade de criadouros de <i>Aedes aegypti</i> no Vale do Paraíba, SP, Brasil. <i>Rev. Saude pública</i> 38 , 209–215 (2004).
Chan, K. L., Ho, B. C. & Chan, Y. C. <i>Aedes aegypti</i> (L.) and <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) in Singapore City. 2. Larval habitats. <i>Bull. World Health Organ.</i> 44 , 629–633 (1971).

Table S2 : Description of the natural breeding sites by type of natural container number of reported breeding sites and References searched within Pubmed.

Type of natural container	Number of reported breeding sites	Reference
Bamboo stumps	127	
	1	Delatte, H. <i>et al.</i> Geographic Distribution and Developmental sites of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. <i>Vector-Borne and zoonotic Diseases</i> . 8 , 25–34 (2008)
	46	Dev, V. Khound, K. and Tewari, G. Dengue vectors in urban and suburban Assam, India: entomological observations. <i>South East Asia Journal of Public health</i> . 3 , 51–59 (2014)
	17	Edlio, F. Roble, N. and Otero, N. The key breeding sites by pupal survey for dengue mosquitoes vectors, <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus) and <i>Aedes albopictus</i> (Skuse), in Guba, Cebu City, Philippines. <i>Southeast Asian Trop Med Public Health</i> . 43 , 1365–1374 (2012)
	12	Gilotra, S. K., Rozeboom, L. E. & Bhattacharya, N. C. Observations on possible competitive displacement between populations of <i>Aedes aegypti</i> Linnaeus and <i>Aedes albopictus</i> Skuse in Calcutta. <i>Bull. World Health Organ</i> . 37 , 437–446 (1967)
	21	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé</i> . 46 , 477–483, 1972
	30	Sota, T., Mogi, M. & Hayamizu, E. Seasonal distribution and habitat selection by <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes riversi</i> (Diptera: Culicidae) in Northern Kyushu, Japan. <i>J. Med. Entomol</i> . 29 , 296–304 (1992)
Bromeliads	291	
	3	Forattini, O. P. & Brito, M. de B. Brief Communication an Unusual Ground Larval Habitat of <i>Aedes albopictus</i> . 40:121-122 (1998)
	275	Marques, G. R. & Forattini, O. P. <i>Aedes albopictus</i> in soil bromeliads in Ilhabela, coastal area of Southeastern Brazil. <i>Rev Saude Publica</i> 39 , 548–552 (2005)
	7	Mocellin, M. G. <i>et al.</i> Bromeliad-inhabiting mosquitoes in an urban botanical garden of dengue endemic Rio de Janeiro - Are bromeliads productive habitats for the invasive vectors <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> ? <i>Mem. Inst. Oswaldo Cruz</i> 104 , 1171–1176 (2009).
	5	Oliveira, V. C. de & Almeida Neto, L. C. de. Ocorrência de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> em bromélias cultivadas no Jardim Botânico Municipal de Bauru, São Paulo, Brasil. <i>Cad. Saude Publica</i> 33 , 1–7 (2017)
	1	O'Meara, G. F., Cutwa, M. M. & Evans, L. F. Bromeliad-inhabiting mosquitoes in south Florida: native and exotic plants differ in species composition. <i>J. vector Ecol</i> . 28 , 37–46 (2003)
Cacao shells	3	
	3	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
Coconut shells	838	
	8	Bagny, L. <i>et al.</i> Progressive Decrease in <i>Aedes aegypti</i> Distribution in Reunion Island since the 1900s. <i>J. Med. Entomol</i> . 46 , 198–207 (2009)
	283	Banerjee, S., Aditya, G. & Saha, G. K. Household disposables as breeding habitats of dengue vectors: Linking wastes and public health. <i>Waste Manag</i> . 33 , 233–239 (2013).
	1	Dev, V. Khound, K. and Tewari, G. Dengue vectors in urban and suburban Assam, India: entomological observations. <i>South East Asia Journal of Public health</i> . 3 , 51–59 (2014)
	7	Edlio, F. Roble, N. and Otero, N. The key breeding sites by pupal survey for dengue mosquitoes vectors, <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus) and <i>Aedes albopictus</i> (Skuse), in Guba, Cebu City, Philippines. <i>Southeast Asian Trop Med Public Health</i> . 43 , 1365–1374 (2012)
	144	Rao, B. B. & George, B. Breeding patterns of <i>Aedes stegomyia albopictus</i> in periurban areas of Calicut, Kerala, India. <i>Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health</i> 41 , 536–540 (2010)
	36	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé</i> . 46 , 477–483, 1972
	20	Shirram, A. Sivan A. and Sugunan A. Spatial distribution of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in relation to geo-ecological features in South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. <i>Bulletin of Entomological Research</i> , in press 2017
	1	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
	316	Thavara, U. <i>et al.</i> Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential mosquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. <i>J. Vector Ecol</i> . 26 , 172–180 (2001).
	22	Vijayakumar, K., Sudheesh Kumar, T. K., Nujum, Z. T., Umarul, F. & Kuriakose, A. A study on container breeding mosquitoes with special reference to <i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in Thiruvananthapuram district, India. <i>J. Vector Borne Dis</i> . 51 , 27–32 (2014).
Dead cow horns	3	
	3	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
Dead leaf on ground	5	
	1	Bagny, L. <i>et al.</i> Progressive Decrease in <i>Aedes aegypti</i> Distribution in Reunion Island since the 1900s. <i>J. Med. Entomol</i> . 46 , 198–207 (2009)
	4	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
Ground cavity	1	
	1	Forattini, O. P. & Brito, M. de B. Brief Communication an Unusual Ground Larval Habitat of <i>Aedes albopictus</i> . 40:121-122 (1998) .
Hollow log	1	
	1	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé</i> . 46 , 477–483, 1972
Leaf axils	16	
	1	Banerjee, S., Aditya, G. & Saha, G. K. Household disposables as breeding habitats of dengue vectors: Linking wastes and public health. <i>Waste Manag</i> . 33 , 233–239 (2013).
	4	Delatte, H. <i>et al.</i> Geographic Distribution and Developmental sites of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. <i>Vector-Borne and zoonotic Diseases</i> . 8 , 25–34 (2008)
	6	Dev, V. Khound, K. and Tewari, G. Dengue vectors in urban and suburban Assam, India: entomological observations. <i>South East Asia Journal of Public health</i> . 3 , 51–59 (2014)
	1	Edlio, F. Roble, N. and Otero, N. The key breeding sites by pupal survey for dengue mosquitoes vectors, <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus) and <i>Aedes albopictus</i> (Skuse), in Guba, Cebu City, Philippines. <i>Southeast Asian Trop Med Public Health</i> . 43 , 1365–1374 (2012)
	1	Kamgang, B. <i>et al.</i> Temporal Patterns of Abundance of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) and Mitochondrial DNA Analysis of <i>Ae. albopictus</i> in the Central African Republic. <i>PLoS Negl. Trop. Dis</i> . 7 , (2013).
	3	Shirram, A. Sivan A. and Sugunan A. Spatial distribution of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in relation to geo-ecological features in South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. <i>Bulletin of Entomological Research</i> , in press 2017
Palm bracts	7	
	7	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé</i> . 46 , 477–483, 1972
Palm leaves	55	
	55	Delatte, H. <i>et al.</i> Geographic Distribution and Developmental sites of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. <i>Vector-Borne and zoonotic Diseases</i> . 8 , 25–34 (2008)
Puddle	1	
	1	Marquetti, M., Bisset, J., Leyva, M., Garcia, A. & Rodriguez, M. Comportamiento estacional y temporal de <i>Aedes aegypti</i> y <i>Aedes albopictus</i> en La Habana, Cuba. 60 , 62–67 (2008).

Suite

Rock holes	49	
	1	Bagny, L. <i>et al.</i> Progressive Decrease in <i>Aedes aegypti</i> Distribution in Reunion Island since the 1900s. <i>J. Med. Entomol.</i> 46 , 198–207 (2009)
	33	Delatte, H. <i>et al.</i> Geografic Distribution and Developmental sites of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. <i>Vector-Borne and zoonotic Diseases</i> , 8 , 25–34 (2008)
	8	O'Meara, G. F., Evans Jr., L. F. & Womack, M. L. Colonization of rock holes by <i>Aedes albopictus</i> in the southeastern United States. <i>J Am Mosq Control Assoc</i> 13 , 270–274 (1997).
	3	Pena, C. J., Gonzalez, G. & Chadee, D. D. Seasonal prevalence and container preferences of <i>Aedes albopictus</i> in Santo Domingo City, Dominican Republic. <i>J. Vector Ecol.</i> 28 , 208–212 (2003).
	1	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé.</i> 46 , 477–483, 1972
	1	Shiriram, A. Sivan A. and Sugunan A. Spatial distribution of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in relation to geo-ecological features in South Andaman, Andaman and Nicobar Inslands, India. <i>Bulletin of Entomological Reasearch</i> , in press 2017
	2	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
Snail shells	10	
	9	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé.</i> 46 , 477–483, 1972
	1	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
Tree holes	125	
	1	Bagny, L. <i>et al.</i> Progressive Decrease in <i>Aedes aegypti</i> Distribution in Reunion Island since the 1900s. <i>J. Med. Entomol.</i> 46 , 198–207 (2009)
	32	Gomes, A. C. <i>et al.</i> Microhabitats de <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) na região do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil. <i>Rev. Saúde Pública S. Paulo</i> 26 , 108–118 (1992).
	1	Delatte, H. <i>et al.</i> Geografic Distribution and Developmental sites of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) During a Chikungunya Epidemic Event. <i>Vector-Borne and zoonotic Diseases</i> , 8 , 25–34 (2008)
	12	Müller, G. C., Kravchenko, V. D., Junnila, A. & Schlein, Y. Tree-hole breeding mosquitoes in Israel. <i>J. Vector Ecol.</i> 37 , 102–109 (2012).
	5	O'Meara, G. F., Evans Jr., L. F. & Womack, M. L. Colonization of rock holes by <i>Aedes albopictus</i> in the southeastern United States. <i>J Am Mosq Control Assoc</i> 13 , 270–274 (1997).
	13	Rozeboom, L. and Bridges, R. Relative population densities of <i>Aedes albopictus</i> and <i>A. guamensis</i> on Guam. <i>Bull. Org. mond. Santé.</i> 46 , 477–483, 1972
	26	Shiriram, A. Sivan A. and Sugunan A. Spatial distribution of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in relation to geo-ecological features in South Andaman, Andaman and Nicobar Inslands, India. <i>Bulletin of Entomological Reasearch</i> , in press 2017
	2	Simard, F., Nchoutpouen, E., Toto, J. C. & Fontenille, D. Geographic distribution and breeding site preference of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. <i>J Med Entomol</i> 42 , 726–731 (2005)
	8	Sivan, A. <i>et al.</i> Natural transmission of dengue virus serotype 3 by <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) during an outbreak in Havelock Island: Entomological characteristics. <i>Acta Trop.</i> 156 , 122–129 (2016).
	16	Sota, T., Mogi, M. & Hayamizu, E. Seasonal distribution and habitat selection by <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes riversi</i> (Diptera : Culicidae) in Northern Kyushu, Japan. <i>J. Med. Entomol.</i> 29 , 296–304 (1992)
	9	Urbinate, P. R., Menezes, R. M. T. & Natal, D. Sazonalidade de <i>Aedes albopictus</i> em área protegida na cidade de São Paulo , Brasil. <i>Rev. Saude Publica</i> 41 , 478–481 (2007).

Table S3 : Host feeding behavior references list by mosquitoes species analyses.

Mosquito species	References	
Aedes albopictus	Almeida, P. <i>et al.</i> Bioecology and Vectorial Capacity of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in Relation to Dengue Virus Transmission. <i>J. Med. Entomol.</i> 42 , 419–428 (2005).	
	Colless, D. H. Notes on the culicine mosquitoes of Singapore. <i>Ann. Trop. Med. Parasitol.</i> 51 , 87–101 (1959).	
	Dennett, J. <i>et al.</i> Associations between two mosquito populations and West Nile virus in Harris County, Texas, 2003–06. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 23 , 264–275 (2007).	
	Pereira dos Santos, T. <i>et al.</i> Potential of <i>Aedes albopictus</i> as a bridge vector for zoonotic pathogens at the urban-forest interface of Brazil. <i>Emerg. Microbes Infect.</i> 4 (2018). doi:10.1038/s41426-018-0194-y	
	Faraji, A. <i>et al.</i> Comparative Host Feeding Patterns of the Asian Tiger Mosquito, <i>Aedes albopictus</i> , in Urban and Suburban Northeastern USA and Implications for Disease Transmission. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> 8 , (2014).	
	Gingrich, J. B. & Williams, G. M. Host-feeding patterns of suspected West Nile virus mosquito vectors in Delaware, 2001–2002. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 21 , 194–200 (2005).	
	Gomes, A., Silva, N., Marques, G. & Brito, M. Host-feeding patterns of potential human disease vectors in the Paraíba Valley Region, State of São Paulo, Brazil. <i>28</i> : 74–78 (2002).	
	Kamgang, B., Nchoutpouen, E., Simard, F. & Paupy, C. Notes on the blood-feeding behavior of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in Cameroon. 3–6 (2012).	
	Kek, R. <i>et al.</i> Feeding Host Range of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) Demonstrates Its Opportunistic Host-Seeking Behavior in Rural Singapore. <i>J. Med. Entomol.</i> 51 , 880–884 (2014).	
	Kim, K. S., Tsuda, Y. & Yamada, A. Bloodmeal Identification and Detection of Avian Malaria Parasite From Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Inhabiting Coastal Areas of Tokyo Bay, Japan. <i>J. Med. Entomol.</i> 46 , 1230–1234 (2009).	
	Kim, H. <i>et al.</i> Host-feeding pattern and dengue virus detection of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) captured in an urban park in Korea. <i>J. Asia. Pac. Entomol.</i> 20 , 809–813 (2017).	
	Muñoz, J. <i>et al.</i> Host-Feeding Patterns of Native <i>Culex pipiens</i> and Invasive <i>Aedes albopictus</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Urban Zones From Barcelona, Spain. <i>J. Med. Entomol.</i> 48 , 956–960 (2011).	
	Niebylski, M. L., Savage, H. M., Nasci, R. S. & Craig, G. B. Blood hosts of <i>Aedes albopictus</i> in the United States. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 10 , 447–50 (1994).	
	Ponlawat, A. & Harrington, L. C. Blood Feeding Patterns of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in Thailand. <i>J. Med. Entomol.</i> 42 , 844–849 (2005).	
	Richards, S. L., Ponnusamy, L., Unnash, T. R., Hassan, H. K. & Apperson, C. S. Host-Feeding Patterns of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in Relation to Availability of Human and Domestic Animals in Suburban Landscapes of Central North Carolina. <i>J. Med. Entomol.</i> 43 , 543–551 (2006).	
	Savage, H. M., Niebylski, M. L., Smith, G. C., Mitchell, C. J. & Craig, G. B. Host-feeding patterns of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) at a temperate North American site. <i>J. Med. Entomol.</i> 30 , 27–34 (1993).	
	Sawabe, K. <i>et al.</i> Host-Feeding Habits of <i>Culex pipiens</i> and <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) Collected at the Urban and Suburban Residential Areas of Japan. <i>J. Med. Entomol.</i> 47 , 442–450 (2010).	
	Sivan, A., Shriam, A. N., Sunish, I. P. & Vidhya, P. T. Host-feeding pattern of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in heterogeneous landscapes of South Andaman, Andaman and Nicobar Islands, India. <i>Parasitol. Res.</i> 114 , 3539–3546 (2015).	
	Tandon, N. & Ray, S. Host feeding pattern of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in Kolkata, India. <i>Dengue Bull.</i> 24 , 117–120 (2000).	
	Tempelis, C. H., Hayes, R. O., Hess, A. D. & Reeves, W. C. Blood-feeding habits of four species of mosquito found in Hawaii. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 19 , 335–341 (1970).	
	Valerio, L. <i>et al.</i> Host-Feeding Patterns of <i>Aedes albopictus</i> . 10 , 291–294 (2010).	
	Egizi, A., Healy, S. P. & Fonseca, D. M. Rapid blood meal scoring in anthropophilic <i>Aedes albopictus</i> and application of PCR blocking to avoid pseudogenes. <i>Infect. Genet. Evol.</i> 16 , 122–128 (2013).	
	Culex pipiens	Apperson, C. S. <i>et al.</i> Host-Feeding Habits of <i>Culex</i> and Other Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with Characters and Techniques for Identification of <i>Culex</i> Mosquitoes. <i>J. Med. Entomol.</i> 39 , 777–785 (2002).
		Beier, J. C., Zimmerman, J. H., Kenawy, M. A., el Said, S. & Abbassy, M. M. Host-feeding patterns of the mosquito community (Diptera: Culicidae) in Aswan Governorate, Egypt. <i>J. Med. Entomol.</i> 24 , 35–39 (1987).
		Gomes, B. <i>et al.</i> Feeding patterns of <i>molestus</i> and <i>pipiens</i> forms of <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. <i>Parasit. Vectors</i> 6 , 93 (2013).
		Ferraguti, M. <i>et al.</i> Avian Plasmodium in <i>Culex</i> and Ochlerotatus Mosquitoes from Southern Spain: Effects of Season and Host-Feeding Source on Parasite Dynamics. <i>PLoS One</i> 8 , (2013).
		Fyodorova, M. V. <i>et al.</i> Evaluation of Potential West Nile Virus Vectors in Volgograd Region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): Species Composition, Bloodmeal Host Utilization, and Virus Infection Rates of Mosquitoes. <i>J. Med. Entomol.</i> 43 , 552–563 (2006).
		Gad, A. M., Riad, I. B. & Farid, H. A. Host-feeding patterns of <i>Culex pipiens</i> and <i>Cx. antennatus</i> (Diptera: Culicidae) from a village in Sharqiya Governorate, Egypt. <i>J. Med. Entomol.</i> 32 , 573–577 (1995).
		Gad, A. M. <i>et al.</i> Host feeding of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with the recurrence of Rift Valley fever in Egypt. <i>J. Med. Entomol.</i> 36 , 709–714 (1999).
		Gingrich, J. B. & Williams, G. M. Host-feeding patterns of suspected West Nile virus mosquito vectors in Delaware, 2001–2002. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 21 , 194–200 (2005).
		Hamer, G. L. <i>et al.</i> <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae): a bridge vector of West Nile virus to humans. <i>J. Med. Entomol.</i> 45 , 125–128 (2008).
		Hamer, G. L. <i>et al.</i> Host selection by <i>Culex pipiens</i> mosquitoes and west Nile virus amplification. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 80 , 268–278 (2009).
		Kenawy, M. A., Beier, J. C., Zimmerman, J. H., el Said, S. & Abbassy, M. M. Host-feeding patterns of the mosquito community (Diptera: Culicidae) in Aswan Governorate, Egypt. <i>J. Med. Entomol.</i> 24 , 35–39 (1987).
Kim, H. <i>et al.</i> Host-feeding pattern and dengue virus detection of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) captured in an urban park in Korea. <i>J. Asia. Pac. Entomol.</i> 20 , 809–813 (2017).		
Kim, H. <i>et al.</i> Host-feeding pattern and dengue virus detection of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) captured in an urban park in Korea. <i>J. Asia. Pac. Entomol.</i> 20 , 809–813 (2017).		
Magnarelli, L. A. Host feeding patterns of Connecticut mosquitoes (Diptera: Culicidae). <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 26 , 547–552 (1977).		
Molaei, G., Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson, J. F. & Vossbrinck, C. R. Host feeding patterns of <i>Culex</i> mosquitoes and west Nile virus transmission, northeastern United States. <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 12 , 468–474 (2006).		
Muñoz, J. <i>et al.</i> Host-Feeding Patterns of Native <i>Culex pipiens</i> and Invasive <i>Aedes albopictus</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Urban Zones From Barcelona, Spain. <i>J. Med. Entomol.</i> 48 , 956–960 (2011).		
Osório, H. C., Zé-Zé, L. & Alves, M. J. Host-Feeding Patterns of <i>Culex pipiens</i> and Other Potential Mosquito Vectors (Diptera: Culicidae) of West Nile Virus (Flaviviridae) Collected in Portugal. <i>J. Med. Entomol.</i> 49 , 717–721 (2012).		
Osório, H. C., Zé-Zé, L., Amaro, F., Nunes, A. & Alves, M. J. Sympatric occurrence of <i>Culex pipiens</i> (Diptera, Culicidae) biotypes <i>pipiens</i> , <i>molestus</i> and their hybrids in Portugal, Western Europe: Feeding patterns and habitat determinants. <i>Med. Vet. Entomol.</i> 28 , 103–109 (2014).		
Patrican, L. A. <i>et al.</i> Host-feeding patterns of <i>Culex</i> mosquitoes in relation to trap habitat. <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 13 , 1921–1923 (2007).		
Reeves, W. C. & Hammon, W. M. Feeding Habits of the Proven and Possible Mosquito Vectors of Western Equine and St. Louis Encephalitis in the Yakima Valley, Washington. <i>Am. Soc. Trop. Med. Hyg.</i> 1–24 , 131–134 (1944).		
Rizzoli, A. <i>et al.</i> Understanding West Nile virus ecology in Europe: <i>Culex pipiens</i> host feeding preference in a hotspot of virus emergence. <i>Parasites and Vectors</i> 8 , 1–13 (2015).		
Savage, H. M. <i>et al.</i> Host Choice and West Nile Virus Infection Rates in Blood-Fed Mosquitoes, Including Members of the <i>Culex pipiens</i> Complex, from Memphis and Shelby County, Tennessee, 2002–2003. <i>Vector-Borne Zoonotic Dis.</i> 7 , 365–386 (2007).		
Tempelis, C. H., Francy, D. B., Hayes, R. O. & Lofy, M. F. Variations in feeding patterns of seven culicine mosquitoes on vertebrate hosts in Weld and Larimer Counties, Colorado. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 16 , 111–119 (1967).		
Tuten, H. C., Bridges, W. C., Paul, K. S. & Adler, P. H. Blood-feeding ecology of mosquitoes in zoos. <i>Med. Vet. Entomol.</i> 26 , 407–416 (2012).		
Hess, A. D., Hayes, R. O. & Tempelis, C. H. The use of the forage ratio technique in mosquito host preference studies. <i>Mosq. News</i> 28 , 386–389 (1968).		
Zimmerman, J. H., Hanafi, H. A. & Abbassy, M. M. Host-feeding patterns of <i>Culex</i> mosquitoes (Diptera: Culicidae) on farms in Gharbiya Governorate, Egypt. <i>J. Med. Entomol.</i> 22 , 82–87 (1985).		
Haemagogus leucocelonus		Alencar, J. <i>et al.</i> Feeding patterns of <i>Haemagogus capricornii</i> and <i>Haemagogus leucocelonus</i> (Diptera: Culicidae) in two Brazilian states (Rio de Janeiro and Goiás). <i>J. Med. Entomol.</i> 45 , 873–8 (2008).
		Silva, S., Alencar, J., Costa, J. M. & Seixas-Iorosa, E. Feeding Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Six Brazilian Environmental Preservation Areas Feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in six Brazilian environmental. 37 , 342–350 (2012).
Aedes simpsoni		Pajot, X.-F. Préférences trophiques, cycle d'activité et lieux de repos d' <i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>simpsoni</i> (Theobald, 1905) (Diptera, Culicidae) en République Centrafricaine. XV , 73–91 (1977).
		Mukwaya, L. G. Host preference in <i>Aedes simpsoni</i> (Theobald) (Diptera, Culicidae) with special reference to the anthropophilic and non-anthropophilic forms in Uganda. <i>Bull. Entomol. Res.</i> 64 , 129–139 (1974).

Table S4 : List of references that reported arbovirus infection, vector competence or detection in *Ae. albopictus*.

Virus Name	References
Arumowot	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
BeAn 100049 (Urucuri)	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Bujaru	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Bussuquara	Tesh, R. B. & Shroyer, D. A. The mechanism of arbovirus transovarial transmission in mosquitoes: San Angelo virus in <i>Aedes albopictus</i> . <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 1394–1404 (1980).
Cache Valley	Armstrong, P. M. <i>et al.</i> Isolations of Cache Valley virus from <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in New Jersey and evaluation of its role as a regional arbovirus vector. <i>J. Med. Entomol.</i> 50 , 1310–4 (2013).
	Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Starwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from <i>Aedes</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994–1995. <i>J. Med. Entomol.</i> 35 , 573–577 (1998).
Chandipura	Ramachandra, R., Sing, K., Dhandu, V. & Bhattacharya, N. Experimental transmission of Chandipura Virus by mosquitoes. 1306–1310 (1967).
Chilibre	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Eastern Equine Encephalomyelitis	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Isolation of eastern equine encephalitis virus from <i>Aedes albopictus</i> in Florida. <i>Science</i> 257 , 526–527 (1992).
	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Susceptibility parameters of <i>Aedes albopictus</i> to per oral infection with eastern equine encephalitis virus. <i>J. Med. Entomol.</i> 30 , 233–5 (1993).
	Moncayo, A. C., Edman, J. D. & Turell, M. J. Effect of eastern equine encephalomyelitis virus on the survival of <i>Aedes albopictus</i> , <i>Anopheles quadrimaculatus</i> , and <i>Culiseta inornata</i> (Diptera: Culicidae). <i>J. Med. Entomol.</i> 37 , 701–706 (2000).
	Scott, T. W., Lorenz, L. H. & Weaver, S. C. Susceptibility of <i>Aedes albopictus</i> to infection with eastern equine encephalomyelitis virus. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 6 , 274–8 (1990).
	Turell, M. J. & Beaman, J. R. Experimental Transmission of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus by a strain of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) from New Orleans, Louisiana. <i>J. Med. Entomol.</i> 29 , 802–807 (1992).
Getah	
Icoaraci	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Ilheus	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Itaporanga	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Jamestown Canyon	Grimstad, P. R. Recently Introduced <i>Aedes albopictus</i> in the United States: Potential vector of La Crosse Virus (Bunyaviridae: California Serogroup)1. 5 , 422–427 (1989).
Japanese Encephalitis	Rosen, L., Tesh, R. B., Lien, J. & John, H. Transovarial Transmission of Japanese Encephalitis Virus by Mosquitoes. <i>Am. Assoc. Adv. Sci.</i> 199 , 909–911 (1978).
	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
	Weng, M. H., Lien, J. C., Wang, Y. M., Wu, H. L. & Chin, C. Susceptibility of three laboratory strains of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) to Japanese encephalitis virus from Taiwan. <i>J. Med. Entomol.</i> 34 , 745–747 (1997).
	Wispelelaere, M., Després, P. & Choumet, V. European <i>Aedes albopictus</i> and <i>Culex pipiens</i> Are Competent Vectors for Japanese Encephalitis Virus. <i>PLoS Negl. Trop. Dis.</i> 11 , 1–19 (2017).
Karimabad	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Keystone	Grimstad, P. R. Recently Introduced <i>Aedes albopictus</i> in the United States: Potential vector of La Crosse Virus (Bunyaviridae: California Serogroup)1. 5 , 422–427 (1989).
	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Isolation of eastern equine encephalitis virus from <i>Aedes albopictus</i> in Florida. <i>Science</i> 257 , 526–527 (1992).
	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
kokobera	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Kunjin	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
La Crosse	Cully Jr., J. F., Streil, T. G. & Heard, P. B. Transmission of La Crosse virus by four strains of <i>Aedes albopictus</i> to and from the eastern chipmunk (<i>Tamias striatus</i>). <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 8 , 237–240 (1992).
	Grimstad, P. R. Recently Introduced <i>Aedes albopictus</i> in the United States: Potential vector of La Crosse Virus (Bunyaviridae: California Serogroup)1. 5 , 422–427 (1989).
	Hughes, M. T. <i>et al.</i> Comparative Potential of <i>Aedes triseriatus</i> , <i>Aedes albopictus</i> , and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) to Transovarially Transmit La Crosse Virus Comparative Potential of <i>Aedes triseriatus</i> , <i>Aedes albopictus</i> , and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae). (2006).
	Lambert, A. J. <i>et al.</i> La Crosse Virus in <i>Aedes albopictus</i> Mosquitoes, Texas, USA, 2009. <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 16 , 856–858 (2010).
	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
	Wesby, K. M., Fritzen, C., Paulsen, D., Poindexter, S. & Moncayo, A. C. La Crosse Encephalitis Virus Infection in Field-Collected <i>Aedes albopictus</i> , <i>Aedes japonicus</i> , and <i>Aedes triseriatus</i> in Tennessee. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 31 , 233–241 (2015).
	Gerhardt, R. R. <i>et al.</i> First isolation of La Crosse virus from naturally infected <i>Aedes albopictus</i> . <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 7 , 807–811 (2001).
Mayaro	Smith, G. C. & Francly, D. B. Laboratory studies of a Brazilian strain of <i>Aedes albopictus</i> as a potential vector of Mayaro and Oropouche viruses. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 7 , 89–93 (1991).
Oropouche	Smith, G. C. & Francly, D. B. Laboratory studies of a Brazilian strain of <i>Aedes albopictus</i> as a potential vector of Mayaro and Oropouche viruses. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 7 , 89–93 (1991).
Orungo	Tomori, O. & Aitken, T. H. Orungo virus: transmission studies with <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae). <i>J. Med. Entomol.</i> 14 , 523–526 (1978).
Pacui	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
Potosi	Francly, D. <i>et al.</i> A new Arbovirus from <i>Aedes albopictus</i> , an Asian mosquito Established in the United States. 250 , 1738–1740 (1990).
	Harrison, B. A. <i>et al.</i> Isolation of potosi virus from <i>Aedes albopictus</i> in North Carolina. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 11 , 225–229 (1995).
	Heard, P. B., Niebylski, M. L. & Francly, D. B. Transmission of a Newly Recognized Virus (Bunyaviridae, Bunyavirus) Isolated from <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in Potosi, Missouri. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 6 , 523–527 (1990).
	Mitchell, C. J., Smith, G. C. & Miller, B. R. Vector Competence of <i>Aedes albopictus</i> for a Newly Recognized Bunyavirus From Mosquitoes Collected in Potosi, Missouri1. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 6 , 523–527 (1990).
	Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Starwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from <i>Aedes</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994–1995. <i>J. Med. Entomol.</i> 35 , 573–577 (1998).
Rift Valley	Brustolin, M. <i>et al.</i> Rift Valley fever virus and European mosquitoes: vector competence of <i>Culex pipiens</i> and <i>Stegomyia albopicta</i> (= <i>Aedes albopictus</i>). <i>Med. Vet. Entomol.</i> 31 , 365–372 (2017).
	Turell, M. J., Bailey, C. L. & Beaman, J. R. Vector competence of a Houston, Texas strain of <i>Aedes albopictus</i> for Rift Valley fever virus. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 4 , 94–96 (1988).
Ross River virus	Mitchell, C. J. & Gubler, D. J. Vector competence of geographic strains of <i>Aedes albopictus</i> and <i>Aedes polynesiensis</i> and certain other <i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) mosquitoes for Ross River virus. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 3 , 142–147 (1987).
	Mitchell, C. J., Miller, B. R. & Gubler, D. J. Vector competence of <i>Aedes albopictus</i> from Houston, Texas, for dengue serotypes 1 to 4, yellow fever and Ross River viruses. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 3 , 460–5 (1987).
Salehabad	Tesh, R. B. Multiplication <i>Phlebotomus phlebotomus</i> fever group arboviruses in mosquitoes after intrathoracic inoculation. <i>J. Med. Entomol.</i> 12 , 1–4 (1975)
San Angelo	Shroyer, D. A. Transovarial Maintenance of San Angelo Virus in Sequential Generations of <i>Aedes albopictus</i> . <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 35 , 408–417 (1986).
	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
	Tesh, R. B. & Shroyer, D. A. The mechanism of arbovirus transovarial transmission in mosquitoes: San Angelo virus in <i>Aedes albopictus</i> . <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 1394–1404 (1980).
Tensaw Virus	Mitchell, C. J. Vector competence of North and South American strains of <i>Aedes albopictus</i> for certain arboviruses: a review. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 7 , 446–451 (1991).
Trivittatus Virus	Grimstad, P. R. Recently Introduced <i>Aedes albopictus</i> in the United States: Potential vector of La Crosse Virus (Bunyaviridae: California Serogroup)1. 5 , 422–427 (1989).
Uganda S	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarial transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Venezuelan Equine Encephalitis	Beaman, J. R. & Turell, M. J. Transmission of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus by Strains of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) Collected from North and South America. <i>J. Med. Entomol.</i> 28 , 161–164 (1991).
	Fernandez, Z., Moncayo, A. C., Carrara, A. S., Forattini, O. P. & Weaver, A. S. C. Vector Competence of Rural and Urban Strains of <i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>albopictus</i> (Diptera: Culicidae) from São Paulo State, Brazil, for IC, ID, and IF Subtypes of Venezuelan Equine Encephalitis Virus. <i>J. Med. Entomol.</i> 40 , 522–527 (2003).
	Turell, M. J. & Beaman, J. R. Experimental Transmission of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus by a strain of <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) from New Orleans, Louisiana. <i>J. Med. Entomol.</i> 29 , 802–807 (1992).
West Nile	Baqar, S., Hayes, C. G., Murphy, J. R. & Watts, D. M. Vertical transmission of West Nile virus by <i>Culex</i> and <i>Aedes</i> species mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 48 , 757–762 (1993).
	Cupp, E. W. <i>et al.</i> West Nile Virus Infection in Mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. <i>J. Med. Entomol.</i> 44 , 117–125 (2007).
	Farajollahi, A. <i>et al.</i> Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. <i>J. Med. Entomol.</i> 46 , 919–25 (2009).
	Holick, J., Kyle, A., Ferraro, W., Delaney, R. & Marta, I. Discovery of <i>Aedes albopictus</i> infected with west nile virus in Southeastern Pennsylvania. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc. INC.</i> 18 , 131 (2002).
	Phillip, C. B. & Smadel, J. E. Transmission of West Nile Virus by Infected <i>Aedes albopictus</i> . C , 49–50 (1943).
	Sardelis, M. R., Turell, M. J., Guinn, M. L. O., Andre, R. G. & Roberts, D. R. Vector Competence of Three North American Strains of <i>Aedes Albopictus</i> for West Nile Virus1. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 18 , 284–289 (2002).
	Tiawsinsup, S., Platt, K. B., Evans, R. B. & Rowley, W. A. A Comparison of West Nile Virus Transmission by <i>Ochlerotatus trivittatus</i> (COQ.), <i>Culex pipiens</i> (L.), and <i>Aedes albopictus</i> (Skuse). 5 , 40–47 (2005).
	Vanlandingham, D. L. <i>et al.</i> Short report: Relative susceptibilities of South Texas mosquitoes to infection with West Nile virus. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 77 , 925–928 (2007).

Suite

Yellow fever	Couto-Lima, D. <i>et al.</i> Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent <i>Aedes</i> populations. <i>Sci. Rep.</i> 7 , 1–12 (2017).
	Johnson, B. <i>et al.</i> Vector competence of Brazilian yellow fever virus isolate * <i>Aedes aegypti</i> and <i>Ae . albopictus</i> for a Brazilian. 611–613 (2002).
	Lourenço de Oliveira, R., Vazelle, M., Maria, A. N. A., Filippis, B. D. E. & Failloux, A. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of <i>Aedes albopictus</i> from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. 69 , 105–114 (2003).
	Miller, B. R., Mitchell, C. J., Ballinger, M. E. & Diseases, V. V. Replication , albopictus tissue tropisms and transmission of yellow fever virus in <i>Aedes</i> . 252–255 (1989).
	Mitchell, C. J., Miller, B. R. & Gubler, D. J. Vector competence of <i>Aedes albopictus</i> from Houston, Texas, for dengue serotypes 1 to 4, yellow fever and Ross River viruses. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 3 , 460–5 (1987).

Table S5 : List of references of the vector competence for *Culex pipiens* * West Nile virus, *Aedes simpsoni* * Yellow Fever virus (YFV) and *Haemagogus leucocelenus* * YFV.

Mosquito	Reference
<i>Culex pipiens</i>	Brustolin, M. <i>et al.</i> Rift Valley fever virus and European mosquitoes: vector competence of <i>Culex pipiens</i> and <i>Stegomyia albopicta</i> (= <i>Aedes albopictus</i>). <i>Med. Vet. Entomol.</i> 31 , 365–372 (2017).
	Fortuna, C. <i>et al.</i> Experimental studies on comparison of the vector competence of four Italian <i>Culex pipiens</i> populations for West Nile virus. <i>Parasit. Vectors</i> 8 , 463 (2015).
	Fros, J. J. <i>et al.</i> Comparative Usutu and West Nile virus transmission potential by local <i>Culex pipiens</i> mosquitoes in north-western Europe. <i>One Heal.</i> 1 , 31–36 (2015).
	Goddard, L. B., Roth, A. E., Reisen, W. K., Scott, T. W. & States, U. Vector Competence of California Mosquitoes for. <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 8 , 1385–1391 (2002).
	Ebel, G. D., Rochlin, I., Longacker, J. & Kramer, L. D. <i>Culex restuans</i> (Diptera: Culicidae) relative abundance and vector competence for West Nile Virus. <i>J. Med. Entomol.</i> 42 , 838–843 (2005).
	Kilpatrick, A. M., Fonseca, D. M., Ebel, G. D., Reddy, M. R. & Kramer, L. D. Spatial and temporal variation in vector competence of <i>Culex pipiens</i> and <i>Cx. restuans</i> mosquitoes for West Nile virus. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 83 , 607–613 (2010).
	Richards, S. L., Mores, C. N., Lord, C. C. & Tabachnick, W. J. Impact of Extrinsic Incubation Temperature and Virus Exposure on Vector Competence of <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> Say (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. 7 , 629–636 (2007).
	Anderson, S. L., Richards, S. L., Tabachnick, W. J. & Smart, C. T. Effects of West Nile Virus Dose and Extrinsic Incubation Temperature on Temporal Progression of Vector Competence in <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i> . <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 26 , 103–107 (2010).
	Turell, M. J., Guinn, M. L. O., Dohm, D. J. & Jones, J. W. Vector Competence of North American Mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus Vector Competence of North American Mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. 38 , 130–134 (2001).
	Vanlandingham, D. L. <i>et al.</i> Short report: Relative susceptibilities of South Texas mosquitoes to infection with West Nile virus. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 77 , 925–928 (2007).
	Vaidyanathan, R., Fleisher, A. E., Minnick, S. L., Simmons, K. A. & Scott, T. W. Nutritional Stress Affects Mosquito Survival and Vector Competence for West Nile Virus. <i>Vector-Borne Zoonotic Dis.</i> 8 , 727–732 (2008).
	Couto-Lima, Di. <i>et al.</i> Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent <i>Aedes</i> populations. <i>Sci. Rep.</i> 7 , 1–12 (2017).
	<i>Haemagogus leucocelenus</i>
<i>Aedes simpsoni</i>	Jupp, P. G. & Kemp, A. Laboratory vector competence experiments with yellow fever virus and five South African mosquito species including <i>Aedes aegypti</i> . <i>Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.</i> 96 , 493–498 (2002).
	Ellis, B. R., Sang, R. C., Horne, K. M., Higgs, S. & Wesson, D. M. Yellow fever virus susceptibility of two mosquito vectors from Kenya, East Africa. <i>Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.</i> 106 , 387–389 (2012).

Figure S1 : Descriptive analysis of the host feedings patterns of *Ae. albopictus* among the different species of domestic animals without taking into account host availability. black line: median.

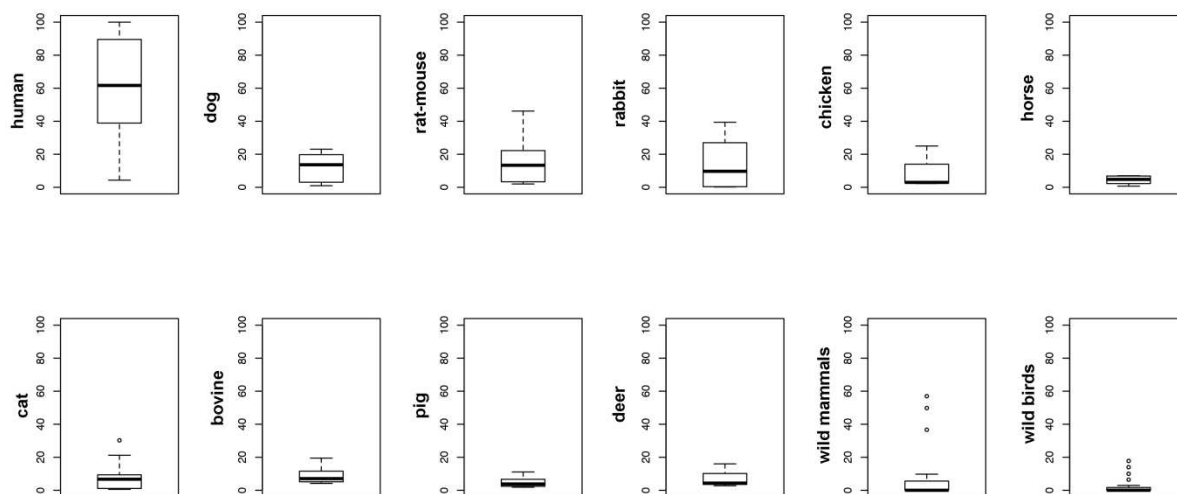


Table S6: *Ae. albopictus* tested by transovarian transmission by Intratracheal Infection inoculation.

Virus Name	References
Bussuquara	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Ilheus	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Japanese Encephalitis	Rosen, L., Tesh, R. B., Lien, J. & John, H. Transovarial Transmission of Japanese Encephalitis Virus by Mosquitoes. <i>Am. Assoc. Adv. Sci.</i> 199 , 909–911 (1978).
Japanese Encephalitis	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Japanese Encephalitis	Chagin and Savoyskiy 1943
Keystone	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Kokobera	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Kunjin	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
La Crosse Virus	Hughes, M. T. <i>et al.</i> Comparative Potential of <i>Aedes triseriatus</i> , <i>Aedes albopictus</i> , and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera : Culicidae) to Transovarially Transmit La Crosse Virus Comparative Potential of <i>Aedes triseriatus</i> , <i>Aedes albopictus</i> , and <i>Aedes aegypti</i> (Diptera : Culicidae) . (2006).
La Crosse Virus	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
Potosi	Heard, P. B., Nieblyski, M. L. & Francy, D. B. Transmission of a Newly Recognized Virus (Bunyaviridae , Bunyavirus) Isolated from <i>Aedes albopictus</i> (Diptera : Culicidae) in Potosi , Missouri. 601–605 (1991).
San Angelo	Shroyer, D. A. Transovarial Maintenance of San Angelo Virus in Sequential Generations of <i>Aedes albopictus</i> . <i>Am J Trop Med Hyg.</i> 35 , 408–417 (1986).
San Angelo	Tesh, R. B. & Shroyer, D. A. The mechanism of arbovirus transovarial transmission in mosquitoes: San Angelo virus in <i>Aedes albopictus</i> . <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 1394–1404 (1980).
San Angelo	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
St. Louis Encephalitis	Hardy, J. L. <i>et al.</i> Effect of rearing temperature on transovarial transmission of St. Louis encephalitis virus in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 963–968 (1980).
Uganda S	Tesh, R. B. Experimental studies on the transovarian transmission of Kunjin and San Angelo viruses in mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 29 , 657–666 (1980).
West Nile	Baqar, S., Hayes, C. G., Murphy, J. R. & Watts, D. M. Vertical transmission of West Nile virus by <i>Culex</i> and <i>Aedes</i> species mosquitoes. <i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i> 48 , 757–762 (1993).

Table S7: Natural detection or isolation of the arbovirus in *Ae. albopictus* with collected mosquitoes in the field.

Virus Name	Detection	Isolation	References
CVV		yes	Armstrong, P. M. <i>et al.</i> Isolations of Cache Valley virus from <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) in New Jersey and evaluation of its role as a regional arbovirus vector. <i>J. Med. Entomol.</i> 50 , 1310–4 (2013).
CVV		yes	Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Starwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from <i>Aedes</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994–1995. <i>J. Med. Entomol.</i> 35 , 573–577 (1998).
EEFV		yes	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Isolation of eastern equine encephalitis virus from <i>Aedes albopictus</i> in Florida. <i>Science</i> 257 , 526–527 (1992).
KEYV		yes	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Isolation of eastern equine encephalitis virus from <i>Aedes albopictus</i> in Florida. <i>Science</i> 257 , 526–527 (1992).
LACV	yes		Westby, K. M., Fritzen, C., Paulsen, D., Poindexter, S. & Moncayo, A. C. La Crosse Encephalitis Virus Infection in Field-Collected <i>Aedes albopictus</i> , <i>Aedes japonicus</i> , and <i>Aedes triseriatus</i> in Tennessee. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 31 , 233–241 (2015).
LACV		yes	Gerhardt, R. R. <i>et al.</i> First isolation of La Crosse virus from naturally infected <i>Aedes albopictus</i> . <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 7 , 807–811 (2001).
LACV		yes	Lambert, A. J. <i>et al.</i> La Crosse Virus in <i>Aedes albopictus</i> Mosquitoes, Texas, USA, 2009. <i>Emerg. Infect. Dis.</i> 16 , 856–858 (2010).
LACV		yes	Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Starwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from <i>Aedes</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994–1995. <i>J. Med. Entomol.</i> 35 , 573–577 (1998).
POTV		yes	Francy, D. <i>et al.</i> A new Arbovirus from <i>Aedes albopictus</i> , an Asian mosquito Established in the United States. 250 , 1738–1740 (1990).
POTV		yes	Harrison, B. A. <i>et al.</i> Isolation of potosi virus from <i>Aedes albopictus</i> in North Carolina. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc.</i> 11 , 225–229 (1995).
POTV		yes	Mitchell, C. J., Haramis, L. D., Karabatsos, N., Smith, G. C. & Starwalt, V. J. Isolation of La Crosse, Cache Valley, and Potosi Viruses from <i>Aedes</i> Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected at Used-Tire Sites in Illinois during 1994–1995. <i>J. Med. Entomol.</i> 35 , 573–577 (1998).
TENV		yes	Mitchell, C. J. <i>et al.</i> Isolation of eastern equine encephalitis virus from <i>Aedes albopictus</i> in Florida. <i>Science</i> 257 , 526–527 (1992).
WNV	yes		Cupp, E. W. <i>et al.</i> West Nile Virus Infection in Mosquitoes in the Mid-South USA, 2002–2005. <i>J. Med. Entomol.</i> 44 , 117–125 (2007).
WNV	yes		Farajollahi, A. <i>et al.</i> Field efficacy of BG-Sentinel and industry-standard traps for <i>Aedes albopictus</i> (Diptera: Culicidae) and West Nile virus surveillance. <i>J. Med. Entomol.</i> 46 , 919–25 (2009).
WNV	yes		Holick, J., Kyle, A., Ferraro, W., Delaney, R. & Marta, I. Discovery of <i>Aedes albopictus</i> infected with west nile virus in Southeastern Pennsylvania. <i>J. Am. Mosq. Control Assoc. INC.</i> 18 , 131 (2002).

Annexe 6 : Information supplémentaire de l'Article 2.

Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for enzootic pathogens at the urban-forest interface in Brazil.

Taissa Pereira dos Santos^{1*}, David Roiz¹, Filipe Vieira Santos de Abreu², Sergio Luiz Bessa Luz³, Marcelo Santalucia⁴, Davy Jiolle¹, Maycon Sebastiao Alberto Santos Neves², Frédéric Simard¹, Ricardo Lourenço-de-Oliveira², Christophe Paupy^{1*}

Author affiliations: ¹MIVEGEC Laboratory, IRD-CNRS-Montpellier Univ., Montpellier, France; ²Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil; ³Instituto Leonidas e Maria Deane, Manaus, Brazil; ⁴Laboratorio de Saude Publica Dr. Giovanni Cysneiros- Secretaria de Estado da Saude de Goiás, Goiania-GO, Brazil.

Address for correspondence: Christophe Paupy, Institut de Recherche pour le Développement, 911, avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France. Tel: +33467416237, Fax: +33467416239, email: christophe.paupy@ird.fr. Taissa Pereira dos Santos, Institut de Recherche pour le Développement, 911, avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France. Tel: +33467416335, email: tayssadnz@gmail.com.

Table S1: Geographic coordinates of the seven additional collection sites.

Area	Latitude	Longitude
Belo Horizonte	19°51'59.29"	44° 0'43.51"
Simonésia	19°55'12.06"	41°54'20.23"
Domingos Martins	20°17'12.48"	40°50'14.35"
Serra	20° 6'46.89"	40°11'12.53"
Casimiro de Abreu	22°26'33.31"	42°12'30.34"
Salvador	12°49'50.34"	38°27'18.77"
Maricá	22°55'24.44"	42°42'27.88"

Table S2: Summary of egg sampling yields with ovitraps in the different sampling areas and according to the distance from the forest edge.

2016 samplings				
Area	Distance	Egg number	Hatching	Other species
Adolpho Ducke	0	1423	102	0
	100	108	24	0
	200	20	0	0
	300 to 900	0	0	0
Subtotal	-	1551	126	0
Pedra Branca	0	638	183	3 ^b
	100	2	0	0
	200	1	0	0
	300	7	0	0
	400 to 900	0	0	0
Subtotal	-	648	183	3
Morro dos Macacos	0	65	14	0
	100	25	0	0
	200	21	0	0
	300	13	0	0
	400 to 900	0	0	0
Subtotal	-	124	14	0
2017 samplings				
Domingos Martins	0	26	0	0
	100	42	0	0
	200	2	0	0
	300	17	0	13 ^c
Subtotal	-	87	0	13 ^c
Salvador	0	236	29	0
	100	117	12	0
	200	4	0	0
	300	64	0	0
Subtotal	-	421	41	0
Simonésia	0	5	0	0
	100	55	2	0
	200	23	0	2 ^c
	300	109	11	0
Subtotal	-	192	13	2 ^c
Belo Horizonte	0	9	8	0
	100	99	18	2 ^c
	200	0	0	0
	300	0	0	0
Subtotal	-	108	26	2
Maricá ^a	0	ND	0	173 ^c
	100	ND	0	36 ^c
	200	ND	0	212 ^c
	300	ND	0	19 ^{c,d}
Subtotal	-		0	440 ^{c,d}
Casimiro de Abreu ^a	0	ND	2	8 ^c
	100	ND	0	1 ^e
	200	ND	0	4 ^d
	300	ND	0	1 ^d
Subtotal	-		2	14 ^{c,d,e}

Hatching: number of *Aedes albopictus* emerged from collected eggs. Other species: number of other mosquito species emerged from the collected eggs. a: Technical problems prevented egg counting in Casimiro de Abreu and Maricá; b: *Ae. aegypti*; c: *Hg. leucocelaenus*; d: *Ae. terrens*; e: *Hg. janthinomys*. ND: Not done.

Table S3 : Summary of adult mosquito sampling with BG-Sentinel traps in the different areas and according to the distance from the forest edge.

2016 Sampling									
Area	Distance	TN	DF	TNF	DFD	FF	TNM	DFM	FM
Adolpho Ducke	0	1096	0.89	638	0.55	0.62	431	0.34	0.38
	100	98	0.08	64	0.05	0.65	34	0.03	0.35
	200	32	0.025	16	0.01	0.5	16	0.01	0.5
	300	4	0.003	3	0	0.75	1	0	0.25
	400	2	0.002	2	0	1	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal	-	1232	1	768	0.62	0.62	464	0.38	0.37
Pedra Branca	0	27	0.19	26	0.19	0.96	1	0.01	0.04
	100	29	0.2	27	0.19	0.93	2	0.01	0.07
	200	67	0.48	61	0.44	0.91	6	0.04	0.09
	300	9	0.06	9	0.06	1	0	0	0
	400	7	0.05	6	0.04	0.85	1	0.01	0.15
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal	-	139	1	129	0.93	0.96	10	0.07	0.04
Morro dos Macacos	0	31	0.49	28	0.44	0.90	3	0.05	0.09
	100	17	0.26	17	0.27	1	0	0	0.09
	200	3	0.04	3	0.05	1	0	0	0
	300	6	0.09	5	0.08	0.83	1	0.02	0.17
	400	4	0.06	4	0.06	1	0	0	0
	500	2	0.03	2	0.03	1	0	0	0
Subtotal	-	63	1	59	0.94	0.93	4	0.06	0.07
2017 Sampling									
Domingos Martins	0	2	0.40	2	0.40	1	0	0	0
	100	1	0.20	1	0.20	1	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	2	0.40	2	0.40	1	0	0	0
	Subtotal	-	5	1	5	1	1	0	0
Salvador	0	14	0.33	14	0.33	1	0	0	0
	100	11	0.26	11	0.26	1	0	0	0
	200	6	0.14	6	0.14	1	0	0	0
	300	12	0.28	12	0.28	1	0	0	0
Subtotal	-	43	1	43	1	1	0	0	0
Simonésia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	6	0.21	4	0.14	0.67	2	0.07	0.33
	200	6	0.21	6	0.21	1	0	0	0
	300	16	0.57	10	0.36	0.63	6	0.21	0.37
Subtotal	-	28	1	20	0.71	0.71	8	0.29	0.29
Belo Horizonte	0	2	0.16	2	0.16	1	0	0	0
	100	3	0.25	3	0.25	1	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	7	0.58	7	0.58	1	0	0	0
Subtotal	-	12	1	12	1	1	0	0	0
Serra	0	1	0.33	1	0.33	1	0	0	0
	100	1	0.33	1	0.33	1	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	1	0.33	1	0.33	1	0	0	0
Subtotal	-	3	1	3	1	3	0	0	0
Maricá	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	3	0.43	3	0.43	1	0	0	0
	200	4	0.57	4	0.57	1	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal	-	7	1	7	1	1	0	0	0
Casimiro de Abreu	0	2	1	2	1	1	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0	0	0	0
Subtotal	-	2	1	2	1	1	0	0	0

TN: Total number of captured adult *Ae. albopictus* specimens. DF: Number of *Ae. albopictus* by distance divided by the total number of mosquitoes collected in that area. TNF: Total number of captured females. DFF: Number of *Ae. albopictus* by distance divided by the total number of mosquitoes collected in that area. FF: Frequency of *Ae. albopictus* females per distance. TNM: Total number of captured *Ae. albopictus* males. DFM: Number of *Ae. albopictus* males by distance divided by the total number of mosquitoes collected in that area. FM: Frequency of *Ae. albopictus* males per distance.

Table S4 : Results of the generalized additive model with negative binomial distribution (GLM.NB) for the Adolpho Ducke, Pedra Branca, and Morro dos Macacos sampling data according to the distance from the forest edge.

Zone	Dep	Ind.	Estimate	SE	z-value	Pr (> z)	Dev.Explained	Dispersion
Egg abundance (GLM.NB)								
AD	Ab	Intercept	5.71	0.473	12.048	< 2e-16 ***	91.82%	0.33
		Distance	-0.02	0.003	-7.69	2.03e-14 ***		
PB	Ab	Intercept	4.28	0.779	5.45	3.87e-08 ***	78.92%	0.68
		Distance	-0.01	0.003	-4.610	4.03e-06 ***		
MM	Ab	Intercept	2.88	0.337	8.54	<2e-16 ***	74.60%	0.66
		Distance	-0.01	0.001	-6.62	3.41e-11 ***		
Adult <i>Aedes albopictus</i> abundance (GLM.NB)								
AD	Ab	Intercept	2.294	0.099	23.070	< 2e-16 ***	30%	1.401
		Distance	-0.008	0.001	-5.943	2.79e-09 ***		
	Ab+offset	Intercept	-2.693	0.098	-27.435	<2e-16 ***	3%	1.436
		Distance	0.0009	0.001	0.726	0.468		
PB	Ab	Intercept	0.607	0.162	3.728	0.0001 ***	1.3%	1.10
		Distance	0.001	0.0008	1.514	0.129		
	Ab+offset	Intercept	-4.581	0.190	-24.050	< 2e-16 ***	55.29%	1.47
		Distance	0.009	0.001	9.223	< 2e-16 ***		
HM	Ab	Intercept	0.415	0.164	2.530	0.001 *	6.9%	0.51
		Distance	-0.006	0.0008	-0.712	0.476		
	Ab+offset	Intercept	-4.13	0.212	-19.460	< 2e-16 ***	48.32%	1.27
		Distance	0.006	0.001	5.399	6.69e-08 ***		

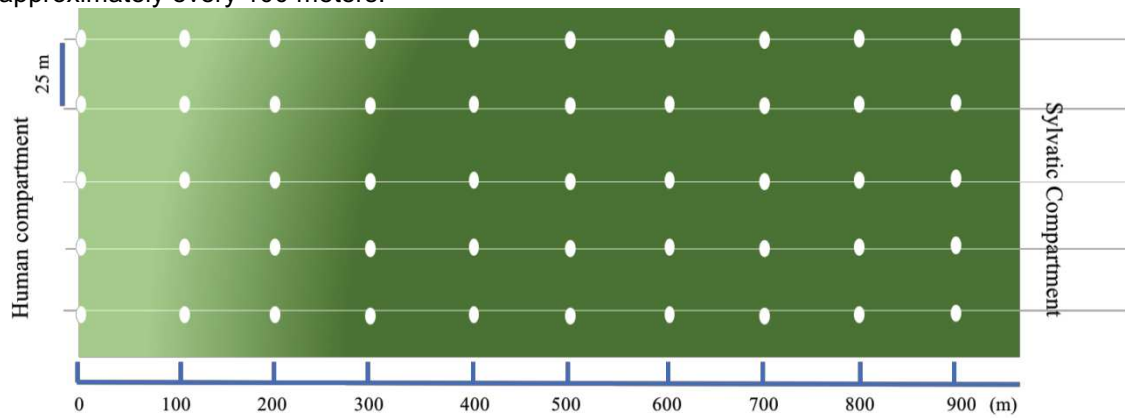
AD: Adolpho Ducke; PB: Pedra Branca; MM: Morro dos Macacos; Dep: dependent variable; Ind: independent variable, Dev: deviance; Ab: abundance; SE, standard error.

Table S5 : Summary of the molecular analyses to assess the host feeding behavior of blood-engorged *Ae. albopictus* females.

Area	Dist	Ab	Primers	Vertebrate	MS	TS	QC	E value	Ident	AN
AD	0	1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	137	137	100%	3.00E-29	98%	MK128940
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	171	171	96%	3.00E-39	98%	MK128941
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	167	167	94%	5.00E-38	98%	MK128942
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	172	172	97%	1.00E-39	98%	MK128943
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	143	143	100%	6.00E-31	99%	MK128944
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	113	113	96%	6.00E-22	87%	MK128945
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	169	169	95%	1.00E-38	98%	MK128946
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	165	165	96%	2.00E-37	97%	MK128947
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	167	167	96%	5.00E-38	98%	MK128948
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	134	134	92%	5.00E-28	92%	MK128949
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	145	145	97%	2.00E-31	98%	MK128950
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	172	172	95%	1.00E-39	99%	MK128951
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	165	165	96%	2.00E-37	97%	MK128952
		1	16s	<i>C. I. familiaris</i>	147	147	100%	4.00E-32	100%	MK128953
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	171	171	100%	3.00E-39	96%	MK128901
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	174	174	100%	3.00E-40	97%	MK128902
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	100%	9.00E-40	97%	MK128903
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	176	176	97%	8.00E-41	98%	MK128905
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	167	167	93%	5.00E-38	97%	MK128906
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	93%	2.00E-36	97%	MK128908
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	99%	2.00E-42	98%	MK128910
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	95%	2.00E-41	99%	MK128911
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	141	141	100%	2.00E-30	95%	MK128912
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	119	119	98%	1.00E-23	88%	MK128913
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	94%	2.00E-41	99%	MK128914
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	93%	2.00E-41	99%	MK128915
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	132	132	100%	1.00E-27	94%	MK128916
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	98%	2.00E-42	98%	MK128917
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	180	180	98%	6.00E-42	98%	MK128918
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	96%	5.00E-28	91%	MK128919
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	97%	1.00E-39	97%	MK128920
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	178	178	95%	2.00E-41	99%	MK128921
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	182	182	97%	2.00E-42	99%	MK128922
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	98%	4.00E-28	95%	MK128923
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%	MK128924
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%	MK128925
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	92%	1.00E-39	98%	MK128926
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	152	152	94%	1.00E-33	95%	MK128927
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	168	168	99%	2.00E-38	96%	MK128928
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	93%	1.00E-39	98%	MK128929
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%	MK128930
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	140	140	92%	7.00E-30	94%	MK128931
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	172	172	94%	1.00E-39	98%	MK128932
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	165	165	98%	2.00E-37	97%	MK128933
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	134	134	100%	2.00E-28	95%	MK128935
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	170	170	93%	4.00E-39	98%	MK128936
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	156	156	94%	1.00E-34	97%	MK128937
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	63.9	63.9	43%	5.00E-07	97%	MK128938
		1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	569	569	97%	1.00E-158	99%	MK153182
		1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	573	573	96%	1.00E-159	99%	MK153183
		1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	586	586	99%	1.00E-163	99%	MK153185
		1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	582	582	96%	2.00E-162	100%	MK153187
1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	579	579	98%	2.00E-161	99%	MK153189		
1	16s	<i>Rattus norvegicus</i>	106	106	95%	1.00E-19	87%	MK128956		
1	CYB	<i>Rattus norvegicus</i>	398	398	98%	6.00E-107	90%	MK153191		
1	16s	<i>Tonatia bidens</i>	82.4	82.4	60%	1.00E-12	96%	MK128954		
1	CYB	<i>Taraba major</i>	466	466	90%	2.00E-127	96%	MK153190		
1	16s	<i>Tonatia bidens</i>	78.8	78.8	62%	1.00E-11	96%	MK128955		
1	16s	<i>Homo sapiens</i>	150	150	100%	4.00E-33	93%	MK128909		
1	16s	<i>Homo sapiens</i>	87.8	87.8	88%	4.00E-14	82%	MK128934		
1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	577	577	99%	8.00E-161	98%	MK153188		
MM	0	1	16s	<i>Homo sapiens</i>	167	167	93%	5.00E-38	97%	MK128939
	0	1	16s	<i>Homo sapiens</i>	161	161	99%	2.00E-36	94%	MK128907
PB	100	1	CYB	<i>Homo sapiens</i>	592	592	97%	3.00E-165	100%	MK153184
	200	1	16s	<i>Homo sapiens</i>	564	564	96%	6.00E-157	99%	MK153186
		1	16s	<i>Homo sapiens</i>	169	169	94%	1.00E-38	98%	MK128904

Area: sampling area; Dist: distance from the forest edge; Ab: Number of abdomens from *Ae. albopictus* females analyzed separately; MS: Maximum score; TS: total score; QC: query cover; E value and Ident (identity): values obtained with the BLAST search (NCBI website); AN: Accession Number in the NCBI website; AD: Adolpho Ducke; MM: Morro dos Macacos; PB: Pedra Branca; 16s, 16S rRNA gene; CYB, cytochrome B oxidase gene.

Figure S1 : The five horizontal lines intersect ten vertical distances from the forest edge into the forest to investigate the limits of *Ae. albopictus* penetration. The white dots represent the collection sites approximately every 100 meters.



Annexe 7 : Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm.

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Manaus

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Manaus	Aedes	4	<i>Aedes aegypti</i>	1	1
			<i>Aedes condolences</i>	2	2
			<i>Aedes albopictus</i>	144	1507
			<i>Aedes fluviatilis</i>	1	3
	Culex	5	<i>Culex erraticus</i>	160	622
			<i>Culex mollis</i>		949
			<i>Culex nigripalpus</i>		14
			<i>Culex pilosus</i>		182
			<i>Culex (Carrolia) sp.</i>		11
		<i>Culex sp.</i>	61		
	<i>Haemagogus</i>	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	2	3
	Limatus	2	<i>Limatus durhamii</i>	16	236
			<i>Limatus pseudomethysticus</i>		16
			<i>Limatus sp.</i>		16
	<i>Orthopodomyia</i>	1	<i>Orthopodomyia fascipes</i>	4	7
	Psorophora	2	<i>Psorophora albipes</i>	12	127
			<i>Psorophora lutzii</i>		24
			<i>Psorophora sp.</i>		6
	<i>Sabethes</i>	1	<i>Sabethes quasicyaneus</i>	6	13
	<i>Trichoprosopon</i>	1	<i>Trichoprosopon digitatum</i>	25	125
<i>Uranotenia</i>	1	<i>Uranotenia calosomata</i>	2	2	
Wyeomyia	2	<i>Wyeomyia aporonoma</i>	6	7	
		<i>Wyeomyia melanocephala</i>		1	
		<i>Wyeomyia sp.</i>		4	
Total	10	20		371	3939

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Goiania.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Goiania	<i>Aedeomyia</i>	1	<i>Aedeomyia squamipennis</i>	4	29
	<i>Aedes</i>	4	<i>Aedes aegypti</i>	2	4
			<i>Aedes albopictus</i>	10	63
			<i>Aedes scapularis</i>	1	1
			<i>Aedes serratus</i>	1	1
			<i>Aedes sp.</i>	4	8
	<i>Coquillettidia</i>	2	<i>Coquillettidia sp.</i>	3	6
			<i>Coquillettidia albicosta</i>		4
			<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	8	51
	<i>Culex</i>	6	<i>Culex declarator</i>	27	1
			<i>Culex dolosus</i>		34
			<i>Culex erraticus</i>		106
			<i>Culex idottus</i>		60
			<i>Culex nigripalpus</i>		57
			<i>Culex sp.</i>		108
			<i>Culex quinquefasciatus</i>		27
	<i>Deinocerites sp</i>	1	<i>Deinocerites sp</i>	1	2
	<i>Haemagogus</i>	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	1	1
	<i>Limatus</i>	1	<i>Limatus durhamii</i>	8	79
	<i>Mansonia</i>	1	<i>Mansonia sp.</i>	2	2
	<i>Orthopodomyia</i>	1	<i>Orthopodomyia fascipes</i>	1	2
	<i>Psorophora</i>	1	<i>Psorophora sp.</i>	2	2
	<i>Sabethes</i>	3	<i>Sabethes (Sabethes) sp.</i>	11	8
<i>Sabethes (Sabethinus) sp.</i>			16		
<i>Sabethes (Sabethoide) sp.</i>			2		
<i>Sabethes belisarioi</i>			1		
<i>Sabethes intermedius</i>			1		
<i>Sabethes quasicyaneus</i>			1		
<i>Wyeomyia</i>	1	<i>Wyeomyia sp.</i>	3	12	
Total	13	23		89	689

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Rio de Janeiro.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Rio de Janeiro	<i>Aedes</i>	6	<i>Aedes aegypti</i>	2	60
			<i>Aedes albopictus</i>	24	381
			<i>Aedes fluviatilis</i>	1	1
			<i>Aedes scapularis</i>	1	1
			<i>Aedes terrens</i>	1	1
			<i>Aedes taeniorhynchus</i>	5	4
	<i>Coquillettidia</i>	1	<i>Coquillettidia sp.</i>	1	1
	<i>Culex</i>	2	<i>Culex nigripalpus</i>	67	975
			<i>Culex (Melanoconion) sp.</i>		17
			<i>Culex quinquefasciatus</i>		483
			<i>Culex sp.</i>		48
	<i>Culicinae</i>			10	
	<i>Haemagogus</i>	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	1	13
	<i>Mansonia</i>	1	<i>Mansonia sp.</i>	1	1
	<i>Psorophora</i>	1	<i>Psorophora sp.</i>	3	5
	<i>Runchomyia</i>	1	<i>Runchomyia sp.</i>	2	9
	<i>Sabethes</i>	1	<i>Sabethes sp.</i>	3	7
<i>Trichoprosopon</i>	1	<i>Trichoprosopon sp.</i>	1	1	
<i>Wyeomyia</i>	3	<i>Wyeomyia aporoma</i>	28	1	
		<i>Wyeomyia splendida</i>		349	
		<i>Wyeomyia confusa</i>		2	
		<i>Wyeomyia sp.</i>		77	
Total	10	18		141	2447

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Simonésia.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Simonésia	Aedes	3	<i>Aedes albopictus</i>	16	28
			<i>Aedes scapularis</i>	17	40
			<i>Aedes terrens</i>	3	4
			<i>Aedes sp.</i>	3	7
	Coquillettidia	2	<i>Coquillettidia sp.</i>	10	12
			<i>Coquillettidia albicosta</i>	1	1
			<i>Coquillettidia venezuelensis</i>	3	3
	Culex	1	<i>Culex sp.</i>	6	6
	Haemagogus	2	<i>Haemagogus jantthinomys</i>	2	2
			<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	26	36
	Limatus	1	<i>Limatus sp.</i>	3	7
			<i>Limatus durhamii</i>	30	104
	Psorophora	2	<i>Psorophora ferox</i>	6	8
			<i>Psorophora sp.</i>	2	2
	Runchomyia	1	<i>Runchomyia sp.</i>	3	5
	Sabethes	5	<i>Sabethes (Dav.) petrocchie</i>	17	61
			<i>Sabethes albiprivus</i>	47	147
			<i>Sabethes chloropterus</i>	2	2
			<i>Sabethes quasicyaneus</i>	1	1
			<i>Sabethes whitmani</i>	1	1
	Sabethes	5	<i>Sabethes sp.</i>	19	28
	Trichoprosopon	1	<i>Trichoprosopon sp.</i>	2	2
Wyeomyia	5	<i>Wyeomyia aporonoma</i>	1	2	
		<i>Wyeomyia confusa</i>	1	3	
		<i>Wyeomyia medioalbipes</i>	2	3	
		<i>Wyeomyia melanocephala</i>	1	1	
		<i>Wyeomyia mystes</i>	1	4	
		<i>Wyeomyia sp.</i>	13	34	
Total		23		239	554

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Domingos Matins.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA	
Domingos Martins	Aedes	4	<i>Aedes albopictus</i>	3	5	
			<i>Aedes argyrothorax</i>	1	1	
			<i>Aedes scapularis</i>	19	43	
			<i>Aedes serratus</i>	3	5	
				<i>Aedes sp.</i>	1	1
	<i>Coquillettidia</i>	1	<i>Coquillettidia justamansonia</i>	1	1	
	<i>Culex</i>	1	<i>Culex nigripalpus</i>	2	2	
	<i>Haemagogus</i>	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	1	2	
	Limatus	2	<i>Limatus durhamii</i>	17	39	
			<i>Limatus pseudometisticus</i>	1	1	
			<i>Limatus sp.</i>	1	1	
	Psorophora	2	<i>Psorophora ferox</i>	1	1	
			<i>Psorophora lutzii</i>	2	2	
			<i>Psorophora sp.</i>	4	5	
	Runchomyia	1	<i>Runchomyia humboldti</i>	1	1	
			<i>Runchomyia sp.</i>	1	1	
	<i>Sabethes</i>	1	<i>Sabethes sp.</i>	1	1	
Wyeomyia	3	<i>Wyeomyia mystes</i>	2	3		
		<i>Wyeomyia bourrouli</i>	2	2		
		<i>Wyeomyia confusa</i>	7	14		
		<i>Wyeomyia sp.</i>	5	7		
Total		16		76	138	

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Serra.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Serra	Aedes	3	<i>Aedes albopictus</i>	2	2
			<i>Aedes scapularis</i>	48	216
			<i>Aedes taeniorhynchus</i>	1	1
			<i>Aedes sp.</i>	1	1
	Coquillettidia	5	<i>Coquillettidia hermanoi</i>	1	1
			<i>Coquillettidia sp.</i>	18	60
			<i>Coquillettidia justamansonia</i>	5	15
			<i>Coquillettidia nigricans</i>	1	6
			<i>Coquillettidia shannoni</i>	1	1
	Culex	2	<i>Culex sp.</i>	10	20
			<i>Culex nigripalpus</i>	1	1
			<i>Culex quinquefasciatus</i>	2	5
	Mansonia	2	<i>Mansonia indubitans</i>	12	77
			<i>Mansonia titillans</i>	3	14
			<i>Mansonia sp.</i>	4	8
	<i>Psorophora</i>	1	<i>Psorophora sp.</i>	1	1
	Total		13		111

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Casimiro de Abreu.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Casimiro de Abreu	Aedes	3	<i>Aedes albopictus</i>	2	2
			<i>Aedes fulvithorax</i>	2	2
			<i>Aedes scapularis</i>	33	378
	Aedeomyia	1	<i>Aedeomyia sp.</i>	1	1
	Haemagogus	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	14	15
	Psorophora	1	<i>Psorophora sp.</i>	1	1
	Sabethes	2	<i>Sabethes aurescens</i>	1	1
<i>Sabethes albiprivus</i>			1	1	
<i>Sabethes sp.</i>			7	14	
Total		8		62	415

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Marica.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Marica	Aedes	5	<i>Aedes aegypti</i>	1	1
			<i>Aedes albopictus</i>	6	7
			<i>Aedes argyrothorax</i>	1	1
			<i>Aedes scapularis</i>	62	387
			<i>Aedes taeniorhynchus</i>	144	1285
			<i>Aedes sp.</i>	3	13
	Culex	1	<i>Culex sp.</i>	22	132
			<i>Culex nigripalpus</i>	29	109
	Haemagogus	2	<i>Haemagogus janthinomys</i>	1	2
			<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	58	224
	Limatus	1	<i>Limatus durhamii</i>	19	50
			<i>Limatus sp.</i>	1	2
	Runchomyia	2	<i>Runchomyia frontosa</i>	2	2
			<i>Runchomyia humboldti</i>	3	3
			<i>Runchomyia sp.</i>	4	6
	Sabethes	1	<i>Sabethes chlopterus</i>	1	1
	Trichoprosopon	1	<i>Trichoprosopon sp.</i>	2	2
			<i>Trichoprosopon digitatum</i>	1	1
	Wyeomyia	3	<i>Wyeomyia bourrouli</i>	3	3
<i>Wyeomyia confusa</i>			6	9	
<i>Wyeomyia mystes</i>			4	5	
<i>Wyeomyia sp.</i>			5	6	
Total		16		378	2251

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Salvador.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Salvador	Aedes	2	<i>Aedes albopictus</i>	30	43
			<i>Aedes scapularis</i>	5	7
	Sabethes	1	<i>Sabethes sp.</i>	1	1
Total		3		36	51

Nombre d'individus analysés à l'aide de Puce Fluidgm classés par genre, nombre d'espèces par genre (N° SP), espèces, nombre de pools analysés par espèce (NPA) et nombre total d'individus analysés (NTMA) à Belo Horizonte.

zone	genre	N° SP	espèce	NPA	NTMA
Belo Horizonte	Aedes	3	<i>Aedes albopictus</i>	10	14
			<i>Aedes fulvithorax</i>	1	1
			<i>Aedes scapularis</i>	74	342
			<i>Aedes sp.</i>	1	1
	Culex	2	<i>Culex sp.</i>	4	4
			<i>Culex coronator</i>	1	1
			<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	1
	Haemagogus	1	<i>Haemagogus leucocelaenus</i>	10	14
	Limatus	1	<i>Limatus durhamii</i>	7	11
	Psorophora	1	<i>Psorophora ferox</i>	5	5
			<i>Psorophora sp.</i>	3	3
	Sabethes	1	<i>Sabethes albiprivus</i>	34	50
			<i>Sabethes sp.</i>	6	6
Wyeomyia	1	<i>Wyeomyia medioalbipes</i>	7	7	
Total		10		164	460

Valorisation.

Participation à des congrès et enseignement.

Enseignante dans les TP du module de Biologie intégrative- HLBE101 (Université de Montpellier). 30h de Septembre a Décembre de 2016

Enseignante dans les TD du module de Base Genetique de l'évolution-BLBE605 (Université de Montpellier). 30h de Janvier à Mai, 2017

Participation au 3rd Institut Pasteur International Network Symposium, to be held from November 29th to December 2nd, 2016 at Paris, France.

ISESSAH-InnovSur 2018- 14-18 May 2018 / SupAgro Montpellier –France. Présentation Orale et Poster.

International Symposium on Zika Virus Research Marseille, 4-6 June 2018. Présentation Orale.

Publications

Pereira dos Santos, T., O. G. Cruz, K. A. B. da Silva, M. G. de Castro, A. F. de Brito, R. C. Maspero, R. de Alcântara, F. B. dos Santos, N. A. Honorio, and R. Lourenço de Oliveira. 2017. Dengue serotype circulation in natural populations of *Aedes aegypti*. *Acta Trop.* 176: 140–143.

Pereira dos Santos, T., D. Roiz, F. de Abreu, S. Luz Bessa, M. Santa Lucia, D. Jiolle, N. Neves, F. Simard, R. Lourenço de Oliveira, and C. Paupy. 2018. Potential of *Aedes albopictus* as a bridge vector for zoonotic pathogens at the urban-forest interface of Brazil. *Emerg. Microbes Infect.* 7: 1–8.

Abreu FVS, Ribeiro IP, Ferreira-de-Brito A, dos Santos AAC, de Miranda RM, Bonelly IS, et al. *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major Yellow Fever outbreak in Brazil, 2016-2018. *Emerg Microbes Infect.* 2019; 8(1): 218-31.

Reyes-Uribe P, **Pereira dos Santos T**, De Jesus JB, Mesquita-Rodrigues C, Arévalo J, Cupolillo E, Cuervo P. Comparative zymographic analysis of metallopeptidase of *Leishmania (Viannia) peruviana* and *Leishmania (Viannia) braziliensis* isolates from Peru. *Parasitology International.* 2012 ; 61(4):513-9.

Résumé

Les zoonoses émergentes sont en augmentation depuis les dernières décennies. Ainsi, il est urgent de comprendre les mécanismes de cette émergence, en particulier d'étudier les facteurs écologiques sous-jacents qui déterminent les transferts d'agents infectieux responsables de ces maladies de l'animal à l'homme. Originaire d'Asie, le moustique tigre *Aedes albopictus* est arrivé au Brésil dans les années 1980s et s'est établi dans 60% des villes brésiliennes. Les forêts brésiliennes sont considérées comme un point chaud de la biodiversité mondiale, abritant des centaines d'arbovirus zoonotiques. Ces forêts qui, parfois entourent de grandes agglomérations urbaines, souffrent de la transformation anthropique du paysage, en un terreau idéal pour l'apparition de zoonoses. *Aedes albopictus* représente une préoccupation majeure pour la transmission d'arbovirus épidémiques (Dengue, Chikungunya, Zika) mais également une menace potentielle pour l'émergence de nouvelles maladies zoonotiques en raison de sa présence dans les interfaces ville / forêt, de son comportement alimentaire opportuniste et de sa compétence vectorielle pour nombreux virus. Ainsi, ce moustique pourrait potentiellement jouer le rôle de vecteur pont pour le transfert vers le milieu urbain d'arbovirus zoonotiques qui circulent naturellement dans les forêts brésiliennes. Dans cette étude, nous évaluons le potentiel de cette espèce à servir de vecteur pont entre la faune et l'homme. Avec cet objectif (i) Nous avons effectué une recherche et une analyse bibliographiques portant sur trois éléments clés permettant d'évaluer la capacité de ce moustique à assurer le transfert interspécifique d'arbovirus dans les zones sylvatiques : 1) la capacité à exploiter les sites naturels de reproduction larvaire, 2) le comportement alimentaire et 3) la compétence vectorielle pour les différents arbovirus. (ii) Nous avons étudié sur le terrain la colonisation, la dispersion, le comportement trophique et l'impact sur la biodiversité d'*Ae. albopictus* dans des interfaces ville / forêt au Brésil. Ce travail de terrain a été réalisé au sein de dix écosystèmes de fragments de forêts dans trois biomes brésiliens: 1) le biome « Amazonia » dans la réserve forestière d'Adolpho Ducke à Manaus; 2) le biome « Mata Atlantica » dans la réserve forestière de Pedra Branca à Rio de Janeiro, dans les fragments de forêt urbaine à Salvador, Serra, Belo Horizonte et dans les fragments de forêt rurale à Domingos Martins, Simonésia, Casimiro de Abreu, Marica-RJ; et le biome « Cerrado » dans la forêt de Morro dos Macacos à Goiania. Dans cette thèse nous avons confirmé qu'*Ae. albopictus* avait la capacité de coloniser des sites de reproduction naturels avec un comportement alimentaire opportuniste et une nette préférence pour les sources de sang humain, suivi par d'autres mammifères et oiseaux. Nous observons que le processus de colonisation et de dispersion est limité à la bordure de la forêt avec un impact sur la composition des espèces dans ces environnements. Nous avons également observé que ce moustique est capable de transmettre 13 arbovirus dans notre recherche bibliographique, bien qu'aucun arbovirus n'ait été détecté chez des moustiques prélevés lors du travail de terrain. Globalement, nos résultats confirment et estiment le rôle potentiel d'*Ae. albopictus* comme vecteur pont des maladies zoonotiques aux interfaces forêt / ville au Brésil. Ces travaux ouvrent des pistes de recherche dans lesquelles qui devraient conduire à de nouvelles investigations visant à évaluer le risque potentiel de propagation des maladies zoonotiques des zones forestières aux zones urbaines, dans le but de limiter les futures émergences virales.

Mots clés: *Aedes albopictus*, Bordure forestières, Émergence d'arbovirus, Émergence de maladie zoonotiques, Écologie

Abstract

Zoonotic emerging diseases are increasing since the last decades and there is an urgent need to understand the mechanisms underlying such emergences, in particular to study the ecological factors determining spill-over events, the transfer from animals to humans. Being native from Asia, the tiger mosquito *Aedes albopictus* invaded Brazil in the 80's being nowadays established in 60% of Brazilian cities. Brazilian forests are considered as hotspots of wildlife biodiversity, harbouring hundreds of zoonotic arboviruses, suffering human landscape transformation and surrounding large urban cities, and becoming optimal breeding ground for the emergence of zoonotic diseases. This mosquito species represents a major concern for the transmission of epidemic arboviruses (dengue, chikungunya, Zika) but also a potential threat for the emergence of zoonotic diseases due to its presence in urban/forest interfaces, its opportunistic feeding behavior and its vector competence to transmit numerous viruses. Thus, *Ae. albopictus* might potentially act as a bridge vector for the transfer of zoonotic arboviruses that are circulating in Brazilian forests in urban environments. In this study we evaluated the potential of this species to act as a bridge vector between wildlife and humans. For this purpose (i) we performed a bibliographic research and analysis focusing on three key components for assessing the ability of a mosquito to ensure interspecies transfer of arboviruses in sylvan areas: 1) the capacity to exploit natural larval breeding sites, 2) blood-feeding behaviour and 3) the vector competence for arboviruses. (ii) Through field studies, we investigated the colonization, dispersion, host feeding and potential impact on the culicid biodiversity of *Ae. albopictus* at the urban/forest interface in Brazil. This fieldwork was performed in ten forest-fragments ecosystems in three Brazilian biomes: biome "Amazonia" in Adolpho Ducke forest reserve-Manaus; biome "Mata Atlantica" in Pedra Branca forest reserve- Rio de Janeiro, in the urban forest fragment Salvador, Serra, Belo Horizonte and in the rural forest fragment Domingos Martins, Simonésia, Casimiro de Abreu, Marica-RJ; biome "Cerrado" in Morro dos Macacos forest – Goiania. This work confirmed that *Ae. albopictus* has the capacity to colonize natural breeding sites and an opportunistic feeding behavior with a clear preference for human blood sources, followed by other mammals and birds. We observed that the colonization and dispersion processes were limited to the edge forest with an impact in mosquito-species assemblages in this particular environments. Our bibliographic analysis underlined *Ae. albopictus* is competent for 13 arboviruses, while no arbovirus was detected from during the viral screening of field-collected mosquitoes. Globally our results confirmed and estimated the potential of *Ae. albopictus* to act as a bridge vector of zoonotic diseases at the forest/urban interfaces in Brazil. This work opens a new research area in which further investigations could be relevant to better assess the potential spill-over risk of zoonotic viruses from forested to urban areas with the aim to mitigate potential future viral emergences.

Keywords: *Aedes albopictus*, Edge forest, arboviral emergence, Zoonotic emerging diseases, Ecology